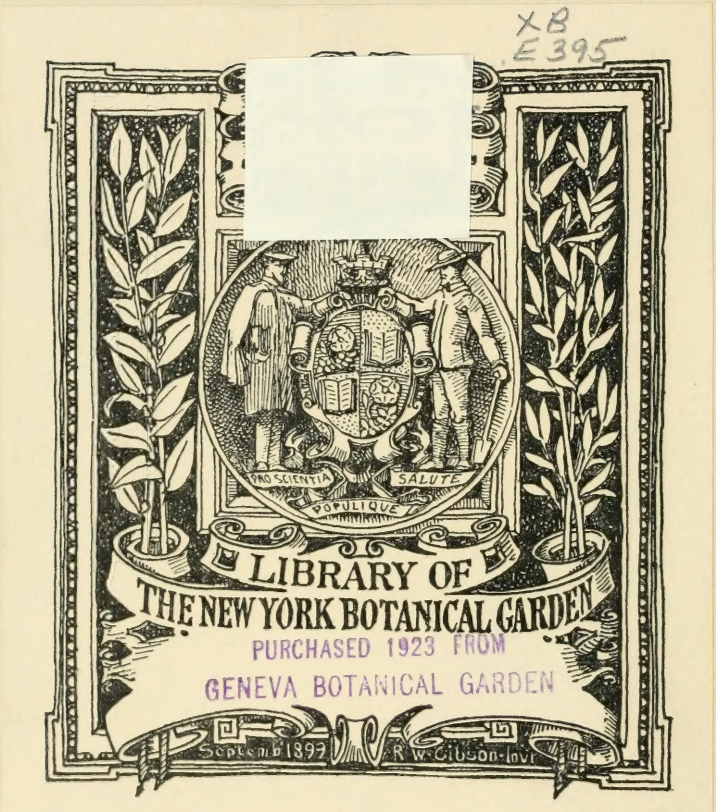
XB
E395


PRO SCIENTIA
SALUTE
POPULIQUE
LIBRARY OF
THE NEW YORK BOTANICAL GARDEN
PURCHASED 1923 FROM
GENEVA BOTANICAL GARDEN
Septemb 1897
R W Gibson Invt

CONSERVATOIRE
BOTANIQUE
VILLE de GENÈVE

DUPLICATA DE LA BIBLIOTHÈQUE
DU CONSERVATOIRE BOTANIQUE DE GENEVE
VENDU EN 1922

Beiträge

zur

Biologie der Pflanzen.

Begründet von

Professor Dr. Ferd. Cohn,

herausgegeben von

Dr. Felix Rosen,

Professor an der Universität Breslau.

Zwölfter Band.

Mit sieben Tafeln.

LIBRARY
NEW YORK
BOTANIC
GARDEN

CONSERVATOIRE
BOTANIQUE
VILLE de GENÈVE

Breslau 1914.
J. U. Kern's Verlag
(Max Müller).

DUPLICATA DE LA BIBLIOTHÈQUE
DU CONSERVATOIRE BOTANIQUE DE GENEVE

XB
E395
v.12
1913-14

Inhalt des zwölften Bandes.

	Heft	Seite
Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen. II. Mitteilung. Zur Physiologie der Euglena gracilis. Von Ernst G. Pringsheim. (Mit Tafel I)	I.	1
Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen. III. Mitteilung. Zur Physiologie der Schizophyceen. Von Ernst G. Pringsheim. (Mit Tafel II)	I.	49
Über den mechanischen Ausgleich der durch Verhinderung der geotropischen Krümmung in den Pflanzen entstandenen Spannungen. Von Richard Morgenstern	I.	109
Physiologisch-systematische Untersuchungen über die Verwandtschaften der Angiospermen. Von Carl Mez und Kurt Gohlke	I.	155
Beiträge zur Anatomie und Morphologie der Mangrove-Pflanzen, insbesondere ihres Wurzelsystems. Von Otto Liebau	II.	181
Kleinere Mitteilungen aus dem Königl. Botanischen Institut in Königsberg:		
1. Zur Frage der „Wuchsenzyme". Von Carl Mez und Horst Mathissig	II.	214
2. Über die physiologische Bedeutung der Mohn-Alkaloide. Von Carl Mez und Arthur Müller	II.	216
3. Sero-diagnostische Untersuchungen über die Verwandtschaften innerhalb der Pflanzengruppe der Ranales. Von Carl Mez und Leo Lange	II.	218
Beiträge zur Phylogenie der Monokotylen, gegründet auf der Embryosackentwicklung apokarper Nymphaeaceen und Helobien. Von Johannes Nitzschke	II.	223
Die Abhängigkeit der Chlorophyllbildung von der Wellenlänge des Lichtes. Von Arnold Schmidt. (Mit Tafel III, IV)	II.	269
Zur Kenntnis der Gattung Cylindrospermum. Von Rudolf Glade. (Mit Tafel V, VI)	II.	295
Kleinere Mitteilungen aus dem Kgl. Botanischen Institut in Königsberg:		
4. Sero-diagnostische Untersuchungen über die Verwandtschaften innerhalb der Pflanzengruppe der Parietales. Von Carl Mez und Alfred Preuß	II.	347
Über den Einfluß des Lichtes auf etiolierte Blätter. Von Erich Schönfeld	III.	351
Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen. IV. Mitteilung. Die Ernährung von Haematococcus pluvialis Flot. Von Ernst G. Pringsheim	III.	413
Über den Einfluß des Quecksilberdampflichtes auf die Keimung und das erste Wachstum von Pflanzen. Von Dr. Walther Carl. (Mit Tafel VII)	III.	435
Das Wachstum von Blaualgen in mineralischen Nährlösungen. Von Heinrich Maertens	III.	439

Register zum zwölften Bande.

	Heft	Seite
Carl, Walther, Über den Einfluß des Quecksilberdampflichtes auf die Keimung und das erste Wachstum von Pflanzen. (Mit Tafel VII)	III.	435
Glade, Rudolf, Zur Kenntnis der Gattung Cylindrospermum. (Mit Tafel V, VI)	II.	295
Liebau, Otto, Beiträge zur Anatomie und Morphologie der Mangrove-Pflanzen, insbesondere ihres Wurzelsystems	II.	181
Maertens, Heinrich, Das Wachstum von Blaualgen in mineralischen Nährlösungen	III.	439
Mez, Carl, und **Gohlke, Kurt,** Physiologisch-systematische Untersuchungen über die Verwandtschaften der Angiospermen	I.	155
Mez, Carl, und **Lange, Leo,** Sero-diagnostische Untersuchungen über die Verwandtschaften innerhalb der Pflanzengruppe der Ranales. (Kleinere Mitteilungen aus dem Königl. Botanischen Institut in Königsberg)	II.	218
Mez, Carl, und **Mathissig, Horst,** Zur Frage der „Wuchsenzyme". (Kleinere Mitteilungen aus dem Königl. Botanischen Institut in Königsberg)	II.	214
Mez, Carl, und **Müller, Arthur,** Über die physiologische Bedeutung der Mohn-Alkaloide. (Kleinere Mitteilungen aus dem Königl. Botanischen Institut in Königsberg)	II.	216
Mez, Carl, und **Preuß, Alfred,** Sero-diagnostische Untersuchungen über die Verwandtschaften innerhalb der Pflanzengruppe der Parietales. (Kleinere Mitteilungen aus dem Königl. Botanischen Institut in Königsberg)	II.	347
Morgenstern, Richard, Über den mechanischen Ausgleich der durch Verhinderung der geotropischen Krümmung in den Pflanzen entstandenen Spannungen	I.	109
Nitzschke, Johannes, Beiträge zur Phylogenie der Monokotylen, gegründet auf der Embryosackentwicklung apokarper Nymphaeaceen und Helobien	II.	223
Pringsheim, Ernst G., Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen. II. Mitteilung. Zur Physiologie der Euglena gracilis. (Mit Tafel I)	I.	1
— Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen. III. Mitteilung. Zur Physiologie der Schizophyceen. (Mit Tafel II)	I.	49
— Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen. IV. Mitteilung. Die Ernährung von Haematococcus pluvialis Flot.	III.	413
Schmidt, Arnold, Die Abhängigkeit der Chlorophyllbildung von der Wellenlänge des Lichtes. (Mit Tafel III, IV)	II.	269
Schönfeld, Erich, Über den Einfluß des Lichtes auf etiolierte Blätter	III.	351

Pièce à relier avec le volume à cause de son intérêt historique.

in das verbündete und neutrale Ausland, das Generalgouvernement Warschau und Brüssel und das Gebiet des Oberbefehlshabers Ost sind diesseits Bedenken nicht zu erheben. Diese Erlaubniserklärung ist d er Druckschrift beizufügen.

A. V.

Königlich Preussisches Oberkommando in den Marken
Presseabteilung Ausfuhr

An Firma
W. Junk,

Berlin W. 15.
Sächsischestr. 68

Buchdruckerei Albert Nauck, SW. 48, Wilhelmstr. 28.

Form. A.

Presse = Abteilung
beim Oberkommando
in den Marken

Berlin W. 9, den 7. Jan. 1918
Potsdamer Straße 22a

Listen = Nr. 43835 (A)

Gegen die Ausfuhr der nachstehend verzeichneten Druckschrift :

Beiträge zur Biologie der Pflanzen

1914.

Beiträge

zur

Biologie der Pflanzen.

Begründet von

Professor Dr. Ferd. Cohn,

herausgegeben von

Dr. Felix Rosen,
Professor an der Universität Breslau.

Zwölfter Band. Erstes Heft.
Mit zwei Tafeln.

Breslau 1913.
J. U. Kern's Verlag
(Max Müller).

Inhalt des ersten Heftes.

Seite

Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen. II. Mitteilung. Zur Physiologie der Euglena gracilis. Von Ernst G. Pringsheim. (Mit Tafel I) 1

Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen. III. Mitteilung. Zur Physiologie der Schizophyceen. Von Ernst G. Pringsheim. (Mit Tafel II) 49

Über den mechanischen Ausgleich der durch Verhinderung der geotropischen Krümmung in den Pflanzen entstandenen Spannungen. Von Richard Morgenstern 109

Physiologisch-systematische Untersuchungen über die Verwandtschaften der Angiospermen. Von Carl Mez und Kurt Gohlke 155

LIBRARY
NEW YORK
BOTANICAL
GARDEN

Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen.

II. Mitteilung.

Zur Physiologie der Euglena gracilis.

Von **Ernst G. Pringsheim.**

(Mit Tafel 1.)

A. Vorversuche.

Das Ausgangsmaterial zu den vorliegenden Untersuchungen stammt aus einer Kulturschale, in der sich im Mai 1908 im Breslauer pflanzenphysiologischen Institute eine dicke breiartige Schicht von Euglenen entwickelt hatte. Ich hatte 1½ Jahre vorher zur Gewinnung von Purpurbakterien nach der Methode von Winogradsky ein Rhizomstück von Acorus mit daranhängendem Schlamm in ein großes Glasgefäß gebracht. Viele Monate, nachdem die gewöhnlichen Fäulnisbakterien und Pilze zurückgegangen und auch die dann folgende Vegetation von Purpurbakterien und Beggiatoen fast ganz verschwunden war, traten die Euglenen auf und hielten sich trotz reichlichen Verbrauchs des Materiales für die verschiedensten Versuche viele Wochen lang. Dabei zeigten sich die Euglenen, wenn man etwas von dem breiartigen Auftrieb in frisches Leitungswasser brachte, sehr schön phototaktisch. Die tieferen Schichten der Flüssigkeit in dem Kulturgefäß waren gleichfalls von Euglenen erfüllt, aus denen sich die Oberflächenschicht immer wieder ergänzte.

Da aber mit einem Aufhören der Produktion gerechnet werden mußte, auch manche weitere Frage mich lockte, versuchte ich von dem als *Euglena gracilis* bestimmten Organismus nach der Methode von Zumstein[1]) Reinkulturen herzustellen, um das Material nach Belieben heranzüchten zu können. Diese Methode beruht auf der Widerstandsfähigkeit des genannten Flagellaten gegen Säure, die es erlaubt, die Bakterien fern zu halten. Es soll nun gelingen, von einem Tropfen einer bakterienhaltigen Rohkultur ausgehend, Reinkulturen zu bekommen, wenn zur Weiterzüchtung Nährlösungen benutzt werden,

[1]) H. Zumstein, Zur Morphologie und Physiologie der *Euglena gracilis* Klebs. Jahrb. f. wissensch. Botanik, Bd. 34, 1900, S. 149.

AUG 7 - 1923

die neben der Säure, [am besten Zitronensäure in Konzentrationen bis zu 2%], z. B. Erbsenwasser, enthalten. Mir ist das nicht geglückt.

Ich ging so vor, daß ich etwas von dem in Leitungswasser phototaktisch angesammelten Materiale entweder unmittelbar in die saure Nährlösung oder in steriles Wasser übertrug und dann mit einer Kapilarpipette unter mikroskopischer Kontrolle einzelne Euglenen herausfischte. Diese wurden dann in die verschiedenen von Zumstein empfohlenen sterilisierten Nährlösungen gebracht. Die Kulturgefäße, hauptsächlich Erlenmeierkölbchen, kamen in gutes Licht. Es hätte wenig Wert, hier alle vergeblichen Versuche zu beschreiben. Nur das Wesentlichste soll hervorgehoben werden.

In den stark saueren Nährlösungen zeigten sich zunächst gar keine Organismen, später aber Faden- und Sproßpilze. Erst wenn diese schon einige Zeit gewachsen waren, traten auch Euglenen auf. In den schwächer saueren Lösungen kamen die Euglenen früher. War nur $^1/_4$% oder noch weniger Zitronensäure verwendet worden, so war die Entwickelung ziemlich üppig, die Pilze herrschten hier nicht so sehr vor. Pilzfreie Kulturen wurden nicht erzielt, auch nicht, wenn mit einzeln herausgefischten Euglenen geimpft wurde. Mir erscheint dieses Ergebnis dem zu entsprechen, was man von vornherein erwarten sollte. Denn wir wissen ja, daß die Bakterien im allgemeinen die neutralen oder basischen, die Fadenpilze und Hefen die mehr oder weniger saueren Flüssigkeiten mit organischen Stoffen zersetzen. Daß es aber gelingen sollte, durch Aufsaugen mit der Pipette die großen Euglenen ohne die überall gegenwärtigen Pilzsporen einzufangen, darf man nicht hoffen. Ich wundere mich, wie Zumstein gearbeitet haben mag, denn daß ihm die Reinkultur gelungen ist, darf man wohl nicht bezweifeln[1]). Von Pilzen aber steht in seiner Arbeit nichts.

Die bei mir auftretenden Schädlinge waren immer dieselben charakteristischen Formen, ein *Penicillium* mit rotem Farbstoff, *Trichothecium roseum,* Hefen und einige weitere, die ich nicht bestimmt habe. In diesen pilzhaltigen Lösungen konnten die Euglenen weiter kultiviert werden, doch war die Methode nicht sehr zufriedenstellend. Ich versuchte daher, schon während der vergeblichen Reinzuchtversuche nach Zumstein, durch Verwendung anderer Nährflüssigkeiten die Erhaltung des für Phototaxisversuche so günstigen Objektes zu sichern. Die gebräuchlichen Nährsalzlösungen gestatten nur langsame Vermehrung, worüber weiter unten berichtet wird. Es wurde

---

[1]) Nur eine Stelle erregt Zweifel. Kulturen in Fleischextraktlösungen sollen nach Zumstein (a. a. O. S. 190) schwer auf die Dauer bakterienfrei zu halten sein. Mir ist das immer gelungen. Wenn eine wirkliche Reinkultur vorliegt, dürfen natürlich in keiner Nährlösung Bakterien auftreten.

daher versucht, durch Zusatz von weniger üppig ernährenden organischen Substanzen die Euglenen gegenüber den ganz heterotrophen Organismen zu fördern.

Abkochungen oder kalte Auszüge von verschiedenen Pflanzenteilen, z. B. trockenen Fabastengeln, besonders aber Samen, erwiesen sich bei großer Verdünnung als recht geeignet. Durch Zufall kam ich darauf, Samen von *Impatiens parviflora* zu verwenden, die mir gerade in größerer Menge zur Verfügung standen. Es wurden einige Körner davon in Leitungswasser getan und die Euglenen hineingeimpft. Die Flagellaten wuchsen darin recht üppig, so daß vielfach auch die für gutes Gedeihen bezeichnenden schwarzgrünen Häute auftraten. In dieser Nährflüssigkeit wurde die *Euglena gracilis* mit gelegentlichen Abänderungen, wie Nährsalzzusatz, Aufkochen der Samen im Wasser u. dgl., lange Zeit fortgezüchtet, während mich neben anderem Versuche beschäftigten, die mit solchen Rohkulturen ganz gut angestellt werden konnten. Schließlich erwies es sich für die mir vorschwebenden Aufgaben doch als notwendig, Reinkulturen zu besitzen. (Vgl. 1. Mitteilung. Diese Beitr. Bd. XI, S. 306.)

Über einige der Reinkultur vorangehende Rohkulturversuche zur Ermittelung der geeignetsten Anhäufungsmethoden soll hier noch berichtet werden. Sie geben gleichzeitig einige ökologische Anhaltspunkte.

B. Rohkulturen in Aufgüssen von Pflanzenteilen.

I. 4. Februar 1910:

Deckelschalen mit je 200 ccm Flüssigkeit, beimpft mit einem Stück Euglenenhaut.

1. Samen von *Impatiens parviflora* in Leitungswasser.
2. Ebenso mit 0,25% Asparagin.
3. Maiskörner in Leitungswasser.
4. Pfeffersche Lösung, 5 mal so konzentriert als für Wasserkulturen.
5. Ebenso mit 0,25% Asparagin.

Ergebnis am 19. Februar 1910:

1. Am besten, ziemlich grün. Chemotaxis gegen die Samen.
2. Erst viel Bakterien neben wenig Euglenen. Dann waren am 10. Februar 2 Tropfen 5prozentiger Salpetersäure hineingesetzt worden. Darauf alles tot.
3. Annähernd wie 1. Wie dort, aber noch stärker, Ansammlung um die Körner. Schwarzgrüne Flecke auf diesen. Sonst annähernd gleichmäßig verteilt.

4. Stets dichter grüner Fleck an der Zimmerseite, wo das Licht sich konzentriert, im Gegensatz zu allen Kulturen mit organischen Stoffen.

5. Bakterienhäutchen und Trübung. Nicht sehr große Mengen Euglenen.

II. 18. Februar 1910:

Kleine Deckelschälchen mit 25 ccm Flüssigkeit und wenig Samen, roh.

1. Pisum sativum.
2. Secale cereale.
3. Phaseolus vulgaris.
4. Brassica Napus.
5. Vicia sativa.

Ergebnis 20. Mai 1910:

1. Viel bewegliche und ruhende Euglenen. Letztere ohne Schleimhülle.

2. Euglenen ruhend bekapselt, darin Teilungen, Hülle nach außen verquellend.

3. Tiefgrüne schöne Kultur, fast nur Euglenen. Diese meist in Teilung, zu 4 und mehr zusammenhängend.

4. Dicke Pilzhaut, darin massenhaft dicht gedrängte Euglenen. Das Ganze tiefgrün. Euglenen fast alle beweglich.

5. Ähnlich wie 4.

Man sieht aus diesen beiden Versuchen, daß die aus verschiedenen Samen austretenden organischen Stoffe besonders bei längerer Versuchsdauer eine üppige Ernährung bewirken. Ähnlich fielen andere Versuche mit Impatienssamen, Maiskörnern, Fabastengeln u. dgl. aus. Besonders auch die letzteren bewirkten eine so starke Vermehrung, wie ich sie in Reinkulturen nie erzielen konnte.

III. 26. Februar 1910:

Große flache Deckelschalen, beimpft mit Stückchen Euglenenhaut.

1. Impatienssamen in Leitungswasser.
2. = = Pfefferscher Lösung.
3. Trockene Fabastengel in Leitungswasser.
4. = = = Pfefferscher Lösung.
5. Relativ viel Maiskörner in Leitungswasser.

Ergebnis 26. Mai 1910:

1. Kultur von der Seite betrachtet frisch grün, auf einigen Samen wenig weißes Pilzmycel. Dünne, kräftig grüne Haut, aus gut aussehenden Euglenen bestehend, von denen einige in Schleimhülle. Nicht eingekapselte Individuen kriechen dazwischen.

2. Auch schön grün, aber Flüssigkeit nicht so durchsichtig. Dünne Haut. Am Boden dünner grüner Belag von beweglichen Euglenen. Ziemlich unrein.

3. Dunkelgrüne bis olivgrüne, dicke, teilweise gefaltete Haut, die zum größten Teile aus dick bekapselten Euglenen besteht, von denen einige in Teilung sind.
4. Weniger Hautbildung, aber mehr Schwärmer.
5. Reichlich bewegliche Euglenen.

31. Mai 1910:

1. Prächtige, relativ reine Haut.
2. Nicht annähernd so schön.
3. Die zahlreichen Euglenen sehen nicht sehr gut aus.
4. Nicht günstig für Haut, aber viel Schwärmer.
5. Pilze, in deren Mycel sich die Euglenen verkriechen. Alle beweglich, keine Schleimhüllen.

Es ergibt sich, daß Rohkulturen auf Impatienssamen besonders sauber, solche auf Fabastengeln besonders üppig ausfallen, wohlgemerkt in Mischkulturen mit Bakterien.

IV. 9. November 1910:

In dem folgenden Versuche werden neben den zum Vergleich herangezogenen Impatienssamen und Maiskörnern einige Objekte geprüft, die erfahrungsgemäß eine üppige Entwickelung von Paramaecien erlauben, nämlich:

1. Impatienssamen in Leitungswasser.
2. Maiskörner =
3. Heu =
4. Trockene Resedastengel =
5. Weißbrot =
6. Graubrot, gesäuert =

Ergebnis am 22. November 1910:

1. Viel Euglenen, durch die Flüssigkeit verteilt.
2. Euglenen chemotaktisch an den Körnern angesammelt.
3. An der Fensterseite oben grüner Rand.
4. Viel Euglenen.
5. Gasentwickelung (offenbar Gährung). Kultur trotzdem gut grün gefärbt.
6. Weniger grün.

Man ersieht daraus die Widerstandskraft und Anpassungsfähigkeit der Euglenen, die mit den verschiedensten sich zersetzenden Substanzen vorlieb nehmen.

In der Natur vermehren sich viele Euglenenarten, wie besonders auch Euglena gracilis dort am üppigsten, wo am Grunde von stehenden Gewässern sich Pflanzenteile zersetzen. Doch befinden sie sich dabei vermöge ihrer Phototaxis und negativen Geotaxis stets

in der Nähe der Oberfläche, meist also von den faulenden Stoffen entfernt. Um diese Bedingungen nachzuahmen, besonders aber um die Nachdiffusion geeigneter Zersetzungsstoffe trotz räumlicher Trennung von den eigentlichen Fäulnisbewohnern zu ermöglichen, wurden die Pflanzenteile nunmehr auf den Boden hoher Zylinder gebracht und teilweise durch Schichten von Erde und Sand am Aufsteigen verhindert.

V. 9. November 1910:

1. Gekochte gelbe Erbsen in der Tiefe eines Glaszylinders, 25 cm unterm Wasserspiegel.

2. Heu, 5 cm hohe Lage, mit Erde, dann mit Sand bedeckt. Erde + Sand = 5 cm. Darüber noch 15 cm Wasser.

Reichlich mit Euglenen aus Rohkultur beimpft.

Ergebnis am 22. November 1910:

1. Die ersten Tage die Euglenen unten, nach 14 Tagen oben, mit Bakterien gemischt. Eine sich allmählich bildende Haut besteht aus Infusorien, Bakterien, viel Euglenen und isolierten Erbsenzellen voller Stärke. Offenbar ist durch eine Art Pektingährung die Mittellamelle der Cotyledonenzellen aufgelöst.

2. Viel Euglenen, sehen recht rein aus, auch mikroskopisch. Sie halten sich lange Zeit dicht über dem Sande, offenbar chemotaktisch angelockt.

Ähnlich fielen Kulturen mit Erbsen, Heu, Resedastengeln und Lupinussamen aus, bei denen überall Erde und Sand über die Pflanzenteile geschichtet war.

Um die Trennung von faulenden Stoffen und Euglenen noch sicherer zu machen, wurden die ersteren in einer Reihe von Versuchen durch eine Pergamentpapiermembran abgeschlossen.

VI. 21. November 1910:

Zur Verwendung kamen aus Pergamentpapierstoff bestehende Diffusionshülsen von Schleicher und Schüll. Sie wurden über genau passende Glasrohrstücke von 20 cm Länge geschoben und festgebunden. Dieses Gebilde wurde in der durch die Figur 1 veranschaulichten Weise in 600 ccm Erlenmeyerkolben gestellt, die so hoch mit Wasser gefüllt wurden, daß es nicht bis zum Rande des Schlauches reichte. Die Flüssigkeit betrug 400 ccm einer gleichmäßigen Euglenenaufschwemmung aus Impatienskultur in Leitungswasser. Fensterbrett nach Norden. In die Hülsen kamen neben einem Tropfen einer guten Euglenenrohkultur zur Infektion mit geeigneten Bakterien folgende Stoffe in Wasser:

1. gelbe Erbsen roh.
2. " " gekocht.

3. Samen von Impatiens parviflora, gekocht.
4. Kleine gelbe Maiskörner, gekocht.
5. Weizenkörner gekocht.
6. Albumin aus Eiweiß.
7. Pepton $2^1/_2$prozentige Lösung.
8. Resedablätter und Stengel.
9. Tropon.
10. Kaffeebohnen gekocht.
11. Am 26. November kam ein Gefäß mit rohem Heu hinzu.

Ergebnisse am 22. November 1910:

1—3. Fast alle Euglenen an der Pergamenthülse unten chemotaktisch angesammelt. 4. Garnicht oder sehr wenig chemotaktisch. 5. Keine Chemotaxis. 6. Chemotaxis. 7. Wie 4. 8. Starke Chemotaxis. 9. Keine Chemotaxis. 10. Chemotaxis.

Es bewirken also gerade die Mais- und Weizenkörner, die, unmittelbar in die Flüssigkeit getan, stark anlocken, hier keine Chemotaxis (vgl. Versuch I u. IV S. 3 u. 5). Offenbar diffundieren aus ihnen viel weniger Stoffe als aus Erbsen etc. Deshalb sammeln sich die Euglenen sonst unmittelbar an ihrer Oberfläche, während an der Außenseite der Hülsen die Reizschwelle nicht erreicht wird.

24. November 1910:

1. Schlauch grün auf der Lichtseite, Wasser schwach trübe.
2. Ebenso.
3. Schlauch nur ganz unten, aber tiefgrün, Wasser fast klar.
4. Gar keine Chemotaxis, Euglenen verteilt, Wasser klar.
5. Ebenso, aber Euglenen am Boden.
6. Schlauch auf der Lichtseite schwach grün, die übrigen Euglenen phototaktisch, Wasser fast klar.
7. Schlauch über dem Wasserspiegel ringförmig schön grün (vgl. Fig. 1). Euglenen bilden auch auf der Fensterseite am Meniskus einen grünen Rand, Wasser klar.
8. Schlauch unter dem Wasserspiegel grün, auch am Glase auf der Lichtseite oben Rand. Wasser trüb, Bakterienhaut.
9. Euglenen am Boden, keine Chemotaxis, Wasser klar.
10. Schlauch unten etwas grün, Wasser leicht getrübt.

27. November 1910:

1. u. 2. Bakterienhäutchen, Schlauch auf der Lichtseite grün, einige Euglenen auch am Schlauch in die Höhe gekrochen, bis 2 cm über die Wasseroberfläche.

3. Schlauch unten an der Rundung und ganz wenig auch über dem Wasserspiegel grün. Die übrigen Euglenen im Lichtfleck hinten unten phototaktisch angesammelt.

4. und 5. Weder Photo- noch Chemotaxis.

6. Keine Bakterien außen sichtbar, sonst wie 1. und 2.

7. Schön grüner Ring über dem Wasserspiegel am Schlauch, einige auch an der Fensterseite am Meniskus, viele im Lichtfleck hinten, Flüssigkeit schön klar!

8. Dickere Bakterienhaut als bei 1. und 2. Schlauch erweist sich beim Herausheben aus der trüben Flüssigkeit auf der Lichtseite grün.

9. Schwacher Ring am Schlauch über dem Wasser und am Meniskus. Die übrigen Euglenen phototaktisch hinten. Wasser klar.

10. Schwaches Bakterienhäutchen. Flüssigkeit bräunlichgrün. Euglenen schwach phototaktisch, am Schlauch keine.

11. Euglenen chemotaktisch unten am Schlauch. Im übrigen phototaktisch.

2. Dezember 1910:

1. und 2. außen reichlich Euglenen. Differenz nicht zu bemerken, vielleicht Bakterienhaut auf 2. stärker. Innen steigt bei 1. eine gelbe schaumige Masse in die Höhe (Gährung), bei 2. nicht.

3., 4. Euglenen spärlich, 5. Wenig besser.

6. Mehr Euglenen, grüner Ring über dem Meniskus. Schlauch auf der Lichtseite grün.

7. Schön grün, aber nicht so gut wie Erbsenkultur. Verteilung wie früher.

8. Etwa wie 1. und 2.

9. Etwa wie 7.

10. Flüssigkeit ganz braun, Euglenen nicht sehr reichlich.

11. Wie 1. und 2

Die Versuche zeigen wiederum, daß eiweißreiche faulende Stoffe besonders viele für die Euglenen geeignete Substanzen abgeben. Sie wurden mit gleichem Erfolge mehrmals wiederholt, wobei an Stelle der Diffusionshülsen Glasröhren kamen, die unten durch ein Stück Pergamentpapier verschlossen waren.

VII. 21. Dezember 1910:

Einigen Aufschluß über die Bedingungen, unter denen unsere Organismen in der Natur gedeihen mögen, gibt auch der folgende Versuch, in dem Kartoffeln das Ausgangsmaterial für die Ernährung der in Rohkultur vorliegenden Euglenen abgaben.

Kartoffelstücken ohne Schale wurden in Wasser zu einer dünnen Suppe verkocht.

1. Kartoffelabkochung mit Satz.

2. Die durchgeschüttelte Aufschwemmung auf die Hälfte verdünnt.

3. Ebenso auf ein Viertel verdünnt.

4. Kartoffelabkochung vom Bodensatz möglichst klar abgegossen.
5. Dieselbe durch entfettete Watte filtriert, worauf nur ganz leise Trübung von colloïdalen Stoffen zurückbleibt.

Ergebnis am 12. Januar 1911:

1. Dicke Bakterienhaut, wenig Euglenen.
2. = = massenhaft Euglenen in ihr.
3. Ganz dünne Bakterienhaut, viel gut bewegliche Euglenen.
4. Dicke Bakterienhaut, viel mehr Euglenen als bei 1.
5. = = wenig Euglenen.

Der Versuch zeigt, daß zu viel organische Stoffe, offenbar durch überreichliche Bakterienentwickelung und die dadurch entstehenden Stoffwechselprodukte, schädlich sind. Bei der Verdünnung auf ½ ist das Verhältnis günstiger, während bei ¼ die Zahl der Euglenen schon wieder zurückgeht. Die Beweglichkeit ist hier, wie auch sonst, in Flüssigkeiten mit nicht allzuviel organischen Stoffen lebhafter. Auch durch Entfernung des Bodensatzes wird wie bei der Verdünnung eine günstigere Konzentration herbeigeführt. Bei 5 aber, wo die Stärke zum größten Teil entfernt ist, fehlt eine Grundsubstanz, die für die Ernährung wichtig ist. In diesem Versuch, wie auch in Rohkulturversuchen mit Zucker ist die günstige Wirkung von Kohlehydraten ersichtlich, die dagegen in Reinkulturen nie zu beobachten war.

Die Bedeutung der Bakterien für das Aufschließen natürlicher Nahrungsquellen zeigt sich schließlich noch in dem folgenden Versuch, in dem Reinkulturen der Euglene absichtlich durch Bakterien verunreinigt wurden. Um eine gar zu üppige Entwickelung derselben zu verhüten, wurden aber die Pflanzenteile in Wasser kurz aufgekocht, so daß nur die Spaltpilze mit widerstandsfähigen Sporen erhalten blieben. Für alle verwendeten Stoffe wurden Vergleichskulturen mit wirklich sterilen Abkochungen (Autoklav) hergestellt.

VIII. 14. November 1910:

Zur Verwendung kamen Erlenmeyerkolben von 200 ccm mit 100 ccm Leitungswasser, da hinein wenig Gerstenkörner, Mais, Erbsen, Resedablätter, Lupinensamen, zwei trockene Pflaumen. Es wird so lange gekocht, bis der Dampf reichlich durch den Wattestöpsel strömt. Geimpft durch Reinkulturen.

Ergebnis am 5. Dezember 1910:

Gerste gährt etwas, Euglenen haben sich nicht entwickelt. Mais: Euglenen teilweise ausgeschlüpft, schön phototaktisch, ein Teil auch chemotaktisch an den Maiskörnern. Erbsen: Flüssigkeit leicht getrübt von Bakterien, Euglenen schön ausgekrochen und phototaktisch. Reseda:

Euglenenhaut und viel Schwärmer, lebhaft grün. Lupinen: Bakterienhaut und Trübung, Euglenen wie bei Erbsen. Pflaumen: Flüssigkeit braun, keine Euglenen.

Überall, außer bei Pflaumen, zeigen die Reinkulturen schwache Vermehrung, bei Gerste sind sie also besser, sons tüberall schlechter als die bakterienhaltigen Kulturen. Pflaumenabkochung läßt, wie zu erwarten, wegen der sauren Reaktion keine Bakterien aufkommen. Pilzkeime werden bekanntlich schon durch so kurzes Kochen vernichtet. Auch für die Euglenen ist die Flüssigkeit zu sauer. Das stimmt mit den später zu schildernden Versuchen mit Zitronensäure und saurem Phosphat ebenso überein wie mit den Erfahrungen an Reinkulturen. Der von mir kultivierte Stamm von *Euglena gracilis* verträgt sehr viel weniger Säure als der Zumsteinsche (a. a. O. S. 159).

Noch weitere Versuche anzuführen, dürfte sich wohl erübrigen. Es geht schon aus den geschilderten hervor, daß die *Euglena gracilis* in stark faulenden Flüssigkeiten zu gedeihen vermag, ja daß gerade Mischkulturen mit Bakterien ihr eine üppige Vermehrung erlauben, so daß dieses Zusammenleben für sie das natürliche zu sein scheint. Dasselbe ergibt sich aus den nun zu schildernden Versuchen mit bestimmten charakterisierbaren Flüssigkeiten, die gleichfalls noch an Rohkulturen angestellt wurden.

C. Rohkulturen in Lösungen von besser bekannter Zusammensetzung.

Die nun zu beschreibenden Experimente schließen sich insofern an die vorausgehenden an, als infolge des Verhandenseins von Bakterien und Pilzen auch hier die eigentlich ernährenden Stoffe nicht genannt werden können. Die Versuche dienten in der Hauptsache der Ermittelung einer möglichst spezifischen Nährlösung, die also erlauben sollte, die fremden Organismen zurückzudrängen, um der Reinkultur vorzuarbeiten. Doch werden sich wiederum allerlei Beobachtungen anführen lassen, die teils zu gewissen physiologischen und ökologischen Deutungen berechtigen, teils als Material für spätere Untersuchungen Nutzen haben dürften.

Hier wären zunächst die Versuche mit Zumsteins Nährlösungen von Erbsenwasser und Pepton unter Zusatz von Zitronensäure einzureihen, über deren allgemeines Ergebnis oben schon berichtet wurde.

Aus ihnen geht hervor, daß die von jenem Autor empfohlenen Gemische sich für die Anhäufung jedenfalls nicht eignen. Über ihre Verwertbarkeit in Reinkulturen wird weiter unten berichtet. Die Zitronensäure erwies sich bei mir zur Fernhaltung störender Organismen als ungeeignet, weil sie das Wachtum der Euglenen hemmte und die Pilzvegetation förderte.

I. 12. Juni 1909:

Es wurde versucht, ob durch Gerbsäure, besser als durch Zitronensäure, die Bakterien und Pilze ausgeschaltet werden könnten.

Nr.	1	2	3	4	5	0,1% Pepton
Nr.	6	7	8	9	10	0,1% Asparagin
Acidum tannicum Merck	0	0,02	0,04	0,08	0,16%	dazu überall 0,1% $MgSO_4$ und 0,1% KH_2PO_4

50 ccm Flüssigkeit in Erlenmeyerkolben von 100 ccm, geimpft aus Rohkultur von Impatienssamen.

Ergebnis am 17. Juni 1909:

Da wo Gerbsäure zugesetzt war, sind Pilze gewachsen, ohne sie Bakterien, daneben später Euglenen, die durch den Gerbsäurezusatz anfangs gehemmt worden waren.

II. 17. Juni 1909:

Da organische Säuren der verschiedensten Art die Pilze ernährten, wurde nunmehr anorganische Säure in Form von saurem Phosphat verwendet.

Nr.	1	2	3	4	5	0,05% Pepton
Nr.	6	7	8	9	10	0,05% Asparagin
KH_2PO_4	0	0,1	0,2	0,4	0,8%	Salze wie oben

100 ccm Flüssigkeit in Erlenmeyerkolben von 200 ccm, geimpft wie oben.

Ergebnis am 25. Juni 1909:

Euglenen gedeihen überall ganz gut, besonders in Asparaginlösung. Aber auch Pilze, resp. in Nr. 1, 2, 6 und 7 auch Bakterien. In Asparagin viel weniger Spaltpilze als in Pepton.

III. 2. Juni 1909:

Da Asparagin sich als geeignet zur Ernährung von Euglenen erwiesen hatte, ohne die Bakterien und Pilze allzusehr zu fördern, wurde nun erprobt, wie stark die Vermehrung des Wachstums durch diesen Stoff gegenüber anorganischen Nährsalzlösungen ist.

1. Leitungswasser + 0,05% NH_4NO_3 + 0,05% KH_2PO_4 (Mg u. S im Leitungswasser).

2. Dasselbe + 0,05% Asparagin.
3. 0,4% $Ca(NO_3)_2$ + 0,1% $MgSO_4$ + 0,1% KH_2PO_4 in destill. Wasser.
4. Dasselbe mit $NaNO_3$ anstatt $Ca(NO_3)_2$.
5. = = $(NH_4)_2SO_4$ = =
6. = = $(NH_4)_2HPO_4$ = =
7. = = Asparagin = =
8. = = = = = + 0,1% $CaCl_2$.

Ergebnis am 27. Juli 1909:

In 3. bis 8. reichlich Euglenen.

7. und 8. stark unrein, 3. bis 6. etwa gleich gut und besser als 1. 2. nicht gut.

Der Versuch zeigt wiederum, daß 0,05 und 0,1% KH_2PO_4 die Lösung nicht sauer genug machen, als daß die Bakterien ausgeschaltet würden (vgl. Versuch II, S. 11). In Gefäß 2 mit 0,05% KH_2PO_4 und Asparagin sind offenbar die Euglenen durch die auftretenden farblosen Organismen geschädigt. Aber auch bei 0,1% KH_2PO_4 ist die Störung noch so groß, daß die anorganischen Stickstoffquellen, Nitrate sowohl wie Ammonsalze ein ebenso gutes Wachstum wie Asparagin gestatten.

IV. 28. Juni 1910:

Deutlicher geht die Überlegenheit organischer Stoffe aus folgendem Versuche hervor, der aus einer noch nicht ganz zuverlässigen „Reinkultur" beimpft wurde.

Je 100 ccm Nährlösung.

1. 0,5% $(NH_4)_2SO_4$ + 0,1% $MgSO_4$ + 0,1% KH_2PO_4.
2. = KNO_3 =
3. = $Ca(NO_3)_2$ =
4. Fleischextrakt 1% (nicht neutralisiert).
5. Erbsenwasser (5 g gelbe Erbsen auf 100 ccm Wasser).
6. Pepton 1% + 0,1% $MgSO_4$ + 0,1% KH_2PO_4.
7. Leucin 1% (natürl., wohl ziemlich unrein) = =
8. Asparagin 1% = =
9. = 0,1% = =
10. Oxamid (gesätt. Lösung) auf 1/10 verdünnt = =
11. Harnsäure gesättigt = =
12. Asparagin 0,1% + Glukose 0,5% = =
13. = = + apfels. Na 0,1% = =
14. = = + Dextrin 0,5% = =
15. = = + weins. Na 0,1% = =
16. = = + zitronens. Na 0,1% = =

17. Asparagin 0,1% + Maltose 0,5% + 0,1% $MgSO_4$ + 0,1% KH_2PO_4.
18. Pepton 1% + Glukose 0,5% = =
19. Tropon 1% (ungelöst) = =
20. $(NH_4)_2SO_4$ 0,1% + Glukose 0,5% = =

Ergebnis am 14. Juli 1910:

1. bis 3. zeigen fast keine Euglenen. 4. Leider infiziert, viel Bakterien, grüner Rand. 5. Viel bei Betrachtung mit bloßem Auge farblos aussehende Schwärmer. 6. Ähnlich, aber weniger Euglenen. 7. Grüne Schwärmer, verteilt, ziemlich reichlich. 8. Keine Euglenen. 9. Fast wie 7. 10. und 11. Weniger, aber auch welche. 12. Ganz wenig Euglenen. 13. und 14. Grüner Rand. 15. bis 17. Keine Euglenen. 18. Wie 5., viel farblos aussehende Schwärmer. 19. Ziemlich viel Euglenen, hauptsächlich am Boden. 20. Durch und durch grün, aber unrein.

Es ist also hierbei noch nicht ganz gelungen die Bakterien fern zu halten, trotzdem zeigt sich eine starke Förderung durch organische Stoffe. Besonders auffallend ist die gute Wirkung einer unreinen Kultur in Glukose-Lösung, worauf noch zurückzukommen sein wird.

28. Juli 1910:

Später zeigt sich, daß Erbsenwasser (in Übereinstimmung mit Zumstein) besonders günstig ist. Die Euglenen ergrünen, sodaß die Kultur etwa so aussieht wie 20. Auch 17. (Maltose) zeigt nun üppiges Wachstum, ist aber gleichfalls nicht rein.

6. Dezember 1910:

1. bis 3. schöngrüner Fleck auf der Zimmerseite, wie stets bei Kulturen in anorganischen Flüssigkeiten. Von den übrigen Kulturen ist 9. am besten, sehr schön grün.

Die gute Wirkung von Leucin wurde auch in unreinen Rohkulturen beobachtet.

V. 25. Mai 1910:

Lehrreich ist noch folgender Versuch mit unreinen Kulturen:

1. Mannit 0,1%.
2. Glukose 0,1%.
3. Ammonium bitartaricum 0,1%.
4. Mannit 0,1% + Asparagin 0,1%.
5. Glukose 0,1% + = 0,1%.
6. Amm. bitart. 0,1% + = 0,1%.
7. Maisabkochung
8. Maisfaulflüssigkeit (mit Bakterien infizierte alte Maisabkochung).
9. Ammonium bimalicum (gleichfalls ausgefaulte Lösung).
10. Sachs'sche Lösung allein.

} Überall Sachs'sche Lösung, und zwar die konzentrierte Stammlösung auf $^1/_{10}$ verdünnt.

Ergebnis am 25. Juni 1910:

1. bis 4. Keine Euglenen. 5. Gelbgrüner Bodensatz, Flüssigkeit trüb von Bakterien. 6. Am besten, sieht klar aus, mit vielen schwimmenden Euglenen, die gelbgrün erscheinen. 7. Fast so gut wie 6., Euglenen aber ganz gelb. 8. Wie 6. und 7., aber Euglenen sehen bei Betrachtung mit bloßem Auge ganz farblos aus. 9. und 10. zeigen keine Euglenen.

30. Juni:

6. und 7. gut, 7. farblos, alle anderen enthalten nur noch wenig Euglenen.

Der Versuch zeigt, daß Mannit ganz ungeeignet ist, Glukose mit Nitratstickstoff an Stelle von Ammon nicht ernährt (in Rohkulturen, die Erfahrung wurde wiederholt gemacht) und daß Asparagin neben Glukose wieder durch zu reichliche Bakterienentwickelung schädigt. Auch das Ammonsalz einer organischen Säure, der Apfelsäure, erweist sich als unbrauchbar. Wird dagegen Asparagin als Stickstoffquelle hinzugefügt, so erfolgt üppiges Wachstum. Auch die Unbrauchbarkeit organischer Säuren zeigte sich später noch wiederholt. In Maisabkochung ist das Wachstum ebenso gut wie in dem ebenso zubereiteten Erbsenwasser. Hierin werden die Euglenen anfangs entfärbt, ebenso in der gleichen Flüssigkeit nach dem Zurückgehen der Bakterien. Sachs'sche Lösung allein ist nicht geeignet.

D. Reinkulturversuche.

Nachdem alle Versuche, durch Isolierung einzelner Individuen zu pilz- und bakterienfreien Kulturen zu gelangen, fehl geschlagen waren, blieben wohl nur noch zwei Methoden übrig, nämlich der Ausstrich auf festem Substrat und das Koch'sche Plattenverfahren.

Letzteres besonders schien aussichtsvoll, nachdem ein Vorversuch gezeigt hatte, daß die Euglenen die Temperatur des erstarrenden Agars, nämlich 40° C., vorübergehend gut ertragen.

Als Substrat wurde eine Agarmischung mit Asparagin verwendet, da letzteres sich als gut fördernd erwiesen hatte, ohne die schädlichen farblosen Organismen, besonders Fadenpilze, zu sehr aufkommen zu lassen. Die Zusammensetzung war im ersten Versuche folgende: Agar-Agar 0,5 %, Asparagin 0,25 %, $MgSO_4$ 0,1 %, KH_2PO_4 0,1 %. Der Agar war also ziemlich dünnflüssig und außerdem schwach sauer, wodurch die Bakterien unterdrückt werden sollten.

I. 23. Juni 1909.

a) Impfung auf die Oberfläche von erstarrten Agarschichten in Petrischalen, Ausstrich mit der Platinnadel.

b) Euglenen in Reagenzgläsern mit verflüssigtem Agar verteilt, der in den Röhrchen erstarrt; „Schüttelkultur" nach Molisch. Aërobe Organismen, besonders Pilze, können so höchstens auf der Oberfläche wachsen.

Ergebnis am 29. Juni 1909:

a. Auf der Agarplatte, die oberflächlich geimpft war, haben sich Euglene verbreitet.

b. In einer der Schüttelkulturen ist eine Kolonie gekommen. Da wo mehr geimpft war, ist die ganze Agarmasse grün. Durch Zerbrechen der Röhrchen läßt sich der Agarzylinder freilegen, sodaß nach Zerschneiden mit sterilem Messer abgeimpft werden kann. Doch zeigt es sich später, daß die Methode mit Petrischalen bequemer ist.

Auch andere Agarmischungen wurden versucht, zunächst solche, die neben Asparagin als Stickstoffquelle organische Säuren enthielten, weil aus den Untersuchungen von Zumstein hervorzugehen schien, daß diese besonders gut ernähren. Weil aber Agar mit einigermaßen saurer Reaktion, offenbar durch hydrolytische Spaltung der Gelose, nicht mehr erstarrt, wurden neutrale und saure Salze der organischen Säuren in geringen Konzentrationen verwendet. Daneben wurden schon in den ersten Versuchsreihen auch Abkochungen von Pflanzenteilen, die in den Rohkulturen gute Erfolge gezeitigt hatten, dem Agar beigegeben.

II. 14. Mai 1910:

Einprozentiger Agar mit 0,1% $MgSO_4$ und KH_2PO_4 wurde mit folgenden Stoffen versetzt:

a) Saures weinsaures Kali (Weinstein) 0,1%, $Ca(NO_3)_2$ 0,1%.

b) Saures weinsaures Kali 0,1%, Asparagin 0,1%.

c) Saures apfelsaures Ammon (Amm. bimalicum) 0,1%.

d) Dasselbe und dazu Asparagin 0,1%.

e) Maisabkochung.

f) Saures weinsaures Ammon (Amm. bitartaricum) 0.1%.

g) Dasselbe und dazu Asparagin 0,1%. Je zwei Platten in verschiedenen Verdünnungen (1 und 2), gegossen von phototaktisch angesammelten Schwärmern. Auf Platte 3 oberflächliche Impfpunkte.

Der Agar a, b, f und g erstarrt nicht.

Ergebnis am 24. Mai 1910.

c) 1. Euglenen über die ganze Platte, Bakterien. 2. Eine lockere Kolonie von Euglenen neben einer großen Bakterienkolonie. 3. Euglenen in einer Pilzkolonie.

d) 1. Massenhaft Euglenen über die ganze Fläche verteilt, keine zusammenhängenden Kolonien. 2. Keine Euglenen. 3. Zwei rein aussehende, sehr lockere Kolonien auf der von Pilzen freien Hälfte der Platte.

e) 1. Neben sehr vielen kleinen Bakterienkolonien auch massenhaft Euglenen, und zwar in vielen gut isolierten, kleinen, dichten Tiefenkolonien, wie auch über die ganze Oberfläche verbreitet. Dabei werden hier wie auch sonst zuweilen die Euglenen in der Nähe einer Bakterienkolonie im Wachstum gefördert oder sie suchen solche auf (Abb. 5). 2. Bakterienkolonien geringer an Zahl, einige wenige gut isolierte Euglenenkolonien, daneben an einigen Stellen Oberflächenverbreitung. 3. An den Impfstellen wenig Euglenen mit Bakterien gemischt.

Man sieht, daß apfelsaures Ammon, besonders mit Asparagin, gut ernährt und Hoffnungen auf Reinkultur erweckt, ebenso Maisagar. Doch fördert die organische Säure die Pilze, und die Maisabkochungen die Bakterien ziemlich stark.

Ähnliches zeigt ein Versuch, in dem zum Vergleich Asparaginagar und solcher von Pflanzenabkochungen gewählt worden war.

III. 2. April bis 6. Juni 1910.

Je zwei Platten, eine (2), die Verdünnung der anderen (1).

Asparaginagar

1. Lockere Kolonien, gut. 2. Eine lockere Kolonie.

Agar mit Impatiensabkochung

1. Zahlreiche lockere Kolonien. 2. Wenige ebensolche

Agar mit Maisabkochung

1. Bakterien und Pilze, aber auch Euglenenkolonien, letztere dicht.
2. Ganz überwuchert von einem sich auf der Oberfläche ausbreitenden Bakterium.

Die Maisabkochung enthält offenbar mehr organische Stoffe als die von Impatienssamen und eignet sich deshalb weniger gut. Der Asparaginagar wieder sehr günstig. Hier wie später macht sich die lockere Struktur der Euglenenkolonien auf Asparaginagar (und Impatiensagar) bemerkbar. Bei üppigerer Ernährung, z. B. Pepton- oder Erbsenagar, sind die Kolonien kleiner und dichter wegen der darin erfolgenden Abrundung der Zellen, während bei weniger reicher Nahrung eine ziemlich lebhafte metabolische Bewegung im Agar erhalten bleibt. Letztere Kolonien werden größer, und deshalb günstiger zum Abimpfen.

IV. 24. Mai 1910:

Aus dem Versuch II d 3 vom 14. Mai auf Asparagin- und Maisagar in Schrägröhrchen geimpft.

Ergebnis am 6. Juni 1910:

Bakterienfrei gewachsen!

Ähnliche Erfahrungen wurden wiederholt gemacht, so zeigte z. B. ein Versuch mit Plattengüssen, die zum Vergleich im Licht und im Dunkeln gehalten wurden, das folgende Bild:

V.

Maisagar:

hell, sehr üppiges Wachstum, rein grün, alle Euglenen gestreckt, kriechend,

dunkel, leidlich vermehrt, gelblich, fast farblos, viele abgerundet, Zellen vacuolig.

Agar mit apfelsaurem Ammon:

hell, nicht sehr reichlich gewachsen, alle Euglenen gestreckt, grün, weit verbreitet,

dunkel, wenig Euglenen, gestreckt, grün.

Agar mit Maisfaulflüssigkeit:

hell, gut gewachsen, aber Euglenen fast farblos, Oberflächenkolonien zeigen lang ausgezogene Zungen.

dunkel, sehr viel Bakterien, Euglenen eingekapselt, farblos.

Impatiensagar:

hell, gutes Wachstum, trotz vieler Bakterien, schön grün, Euglenen alle gestreckt, Kolonien zeigen zungenförmig ausgebreitete Ränder.

dunkel, Euglenen wenig vermehrt, grün, gestreckt.

Die Vermehrung im Dunkeln war also in dem am besten ernährenden Maisagar noch am ansehnlichsten. Auf den Verlust der grünen Farbe soll in einem besonderen Abschnitte eingegangen werden. Die Ernährung mit Mais- und Impatiensabkochung erweist sich jedenfalls der mit organischen Säuren überlegen, da selbst die beste von diesen, die Apfelsäure, sich nicht besonders bewährt.

Es wurde nun noch einmal zum genaueren Vergleich der Pflanzenabkochungen mit dem bewährten Asparaginagar geschritten und gleichzeitig versucht, ob dieser vielleicht durch apfelsaures Ammon noch verbessert werden kann.

VI. 1. bis 14. Juni 1910:

Plattenguß, hergestellt mit:

Impatiensagar:

mäßiges Wachstum, Tiefenkolonien dicht, klein.

Maisagar:

Tiefenkolonien klein, sehr dicht, dunkelgrün (Pilze und Bakterien wachsen ziemlich gut).

Maisfaulagar:

Oberflächenimpfung. Sehr lockere Kolonien, Farbstoff geht zurück, Euglenen vielfach abgerundet mit Vacuolen.

Asparaginagar:

Gegossene Platte, zeigt schöne lockere Kolonien. Eine zweite mit Oberflächenimpfung trägt außerordentlich dicht gedrängte Kolonien von festem Umriß. Schön grün. Wenig Verunreinigungen auf den Platten.

Asparaginagar mit apfelsaurem Ammon:

Pilze wachsen stark. Euglenenkolonien sehr locker, verstreut in der Tiefe. Wachstum schlechter als ohne apfelsaures Ammon.

Daraus geht wieder die Überlegenheit des Asparaginagars für Plattenguß hervor; sowohl gegenüber den an sich auch ganz guten Pflanzensamenaufgüssen, wie auch besonders im Vergleich mit den organischen Säuren. Apfelsäure wurde noch einmal in Gestalt verschiedener Salze geprüft und die anderen guten Agargemische zum Vergleich herangezogen.

VII. 16. bis 27. Juni 1910:

Saures apfelsaures Ammon [nebst $MgSO_4$ und K_2HPO_4].

Sehr dichte kleine traubige Kolonien.

Neutrales apfelsaures Natron:

genau ebenso.

Ein Gemisch beider:

ebenso.

Apfelsaures Ammon + Asparagin:

leidlich, größere Kolonien als ohne Asparagin.

Asparagin ohne Apfelsäure:

noch größere Kolonien, Euglenen mehr verteilt.

Impatiensagar:

wie voriges.

Maisagar:

sehr lockere Kolonien, Eugl. wandern ziemlich weit im Agar.

Maisfaulagar:

Wachstum etwa so gut wie bei den Malaten. Auch hier die untergetauchten Kolonien grün.

Der Versuch zeigt, daß die Salze der Apfelsäure als Zugabe zum Agar leidlich brauchbar sind, doch wird man sie wegen der Pilzgefahr nicht gern heranziehen. Maisabkochung wiederum ist gut, ernährt aber die Bakterien zu üppig. Bleibt als besonders geeignet

Impatiens- und Asparaginagar, von welchen der letztere der einfachen Beschaffung und Zusammensetzung wegen vorzuziehen ist. Danach wäre die Frage nach einer günstigen Agarmischung zur Reinkultur von *Euglena gracilis* zugunsten des 0,1 prozentigen Asparaginagars entschieden. Welche Ernährung für die Weiterkultur geeignet ist und wie überhaupt die Bedürfnisse unseres Organismus liegen, soll im Folgenden gezeigt werden, wobei an die vorliegenden Versuche von Zumstein und an die geschilderten eigenen Erfahrungen anzuknüpfen sein wird.

E. Reinkulturen auf festem Substrat.

An die im letzten Abschnitt geschilderten Versuche mit Plattenguß schließen sich am besten die Impfungen auf Agarmischungen verschiedener Zusammensetzung an.

I. 21. bis 28. Juni 1910:

Die Impfungen wurden zunächst auf die Oberfläche von Agar gemacht, der in Petrischalen erstarrt war. So war eine mikroskopische Kontrolle möglich, die in Reagenzgläsern nicht auszuführen ist. Hell- und Dunkelkulturen.

Maisagar:

dunkel, die Euglenen anscheinend völlig farblos, sie kriechen am Rande des Impffleckes lebhaft umher,

hell, ähnlich, aber grüner, wenn auch nicht sehr lebhaft gefärbt.

Maisfaulagar:

dunkel, schlechte Ausbreitung, aber dichtes Wachstum am Rande, gelbgrün,

hell, ähnlich, aber viel grüner.

0,1 % Asparagin:

dunkel, mäßiges Wachstum, sehr beweglich am Rande des Impftropfens,

hell, ausgezeichnetes, dichtes Wachstum mit vielen Teilungsstadien, dunkelgrün.

0,1 % apfelsaures Ammon:

dunkel, schlechte Ausbreitung, daher Vermehrung schwer festzustellen, hellgrün,

hell, traubiges, dichtes Wachstum, dunkelgrün (durch Pilz verunreinigt).

0,1 % apfelsaures Natron:

dunkel, leidliche Vermehrung, hellgrün,

hell, viel grüner, besseres Wachstum in traubiger Kolonie.

0,1 % apfelsaures Ammon + 0,1 % Asparagin:

dunkel, Wachstum und Ausbreitung gut, hellgrün, viele Eugl. beweglich (durch Pilz verunreinigt),

hell, ähnlich, aber lebhaft grün.

0,1 % apfelsaures Ammon + 0,1 % Leucin:
dunkel, kein gutes Wachstum, grün,
hell, ebenso.
0,1 % $(NH_4)_2HPO_4$ (ohne andere Salze):
dunkel, Wachstum etwa wie bei Maisfaulagar. Dichte Vermehrung am Rande des Impffleckes, Euglenen auffallend goldgelb,
hell, dunkelgrün, sonst ebenso. Auch später gute Ausbreitung und Vermehrung.

Der Versuch hatte vor allem das überraschende Ergebnis, daß ein Agar ohne weitere organische Stoffe, der nur Ammoniumphosphat als N- und P-Quelle enthielt, zur Ernährung recht geeignet ist und sich zur Fortzüchtung wegen der guten Ausbreitung der Euglenen auf der Oberfläche sogar besser eignet als irgend eine Mischung mit besonderer C-Quelle. Wegen des langsamen Wachstums der Euglenen in bloßen Salzlösungen waren derartige Rezepte vorher garnicht erprobt worden. Die Erfahrung wurde auch bei anderen Algen wiederholt gemacht, daß irgend welche Stoffe des Agars fördernd wirken und auch solchen Organismen Vermehrung erlauben, die in anorganischer Lösung schwer oder garnicht zu kultivieren sind. Bei Euglenen gilt das sogar für die Kultur im Dunkeln, sodaß die Verwendung organischer Stoffe aus dem Agar klar ersichtlich ist.

Von den sonstigen Dunkelkulturen auf Agar sind besonders die mit Apfelsäure und Asparagin gut gediehen, während Leucin sich als wenig geeignet erwies.

II. 18. Juli 1910:

Um diese Ergebnisse sicherer zu stellen, wurde der folgende Versuch angesetzt, in dem auch einige weitere Gemische zur Anwendung kamen. Es wurden Reagenzgläser mit schrägem Agar auf der Oberfläche mit Reinkulturen beimpft.

1. Maisagar.
2. Maisfaulagar.
3. 0,1 % Asparagin.
4. 0,1 % apfelsaures Ammon.
5. 0,1 % apfelsaures Ammon + 0,1 % Leucin.
6. 0,1 % " " + 0,1 % Pepton.
7. 0,5 % apfelsaures Natron.
8. 0,1 % Leucin.
9. 0,1 % Calciumnitrat.
10. 0,1 % Ammonphosphat.
11. Erbsenfaulagar.
12. " + Mannit.
13. " + Glukose.
14. " + Maltose.

	Ergebnis am	
	26. Juli	30. Juli
1.	ganz gut	ganz gut
2.	nichts	mäßig
3.	mäßig	ganz gut
4.	ganz gut	ganz gut
5.	nichts	nichts
6.	=	sehr wenig
7.	ganz gut	ganz gut
8.	mäßig	mäßig
9.	=	=
10.	=	gut ausgebreitet und vermehrt
11.	gut ausgebreitet	sehr gut, aber hell gefärbt
12.	Bakterien	Bakterien
13.	gut, aber Bakterien	—
14.	gut	gut

9. August 1910:

Am besten 11, dann 10, hierauf an Güte abnehmend 14 = 6 = 3 dann 4 = 7, dann 9 = 1 = 8, in 5 nichts gewachsen.

18. August 1910.

1. Ganz gut, am Rande herum ausgebreitet. 2. Fortgetan. 3. Locker, und Pünktchen über eine größere Fläche ausgebreitet. 4. Nicht weiter gewachsen. 5. Ganz kleiner, dunkelgrüner Klex. 6. Sehr gut ausgebreitet, aber spärliches Wachstum. 7. Nicht weiter gewachsen, olivgrün. 8. Sehr spärlich, gut ausgebreitet. 9. Locker, gelbgrün. 10. Dicker dunkelgrüner, gefalteter Belag. 11. Über und über grün, auch zwischen Glas und Agar. 12. und 13. Fortgetan. 14. Kleine Menge grüner Klexchen.

Der Versuch zeigt, entsprechend dem natürlichen Vorkommen der Euglenen in faulenden Flüssigkeiten, ein gutes Wachstum in dem nicht ganz ausgefaulten Erbsendekokt, während die, keine zersetzlichen Stoffe mehr enthaltende Maisfaulflüssigkeit schlecht ist. Die Möglichkeit der Autotrophie unterstützt das Wachstum auf dem Ammonphosphat als N-Quelle enthaltenden Agar, dessen organische Stoffe aber mit ernährt haben mögen. Leucin erweist sich wieder als ungünstig.

Noch ein Versuch sei mitgeteilt, bei dem wieder die Impfung auf die Oberfläche erstarrter Nährböden geschah.

III. 9. August 1910:

1. Gelatine 10 % in Wasser ohne Salze.
2. Agar mit ausgefaulter Erbsenabkochung.
3. Agar mit nicht ganz ausgefaulter Maisabkochung.
4. Agar mit 0,1 % $MgSO_4$ und 0,1 % KH_2PO_4.

5. Agar mit Maisabkochung und Glukose.
6. Agar mit 0,1 % apfelsaurem Natron.
7. Agar mit 0,1 % $Ca(NO_3)_2$.
8. Gewässerter Agar mit 0,1 % $(NH_4)_2HPO_4$.
9. Agar mit 0,2 % Fleischextrakt.
10. Agar mit 0,1 % $(NH_4)_2HPO_4$ und 0,5 % Glukose.
11. Agar mit 0,1 % apfelsaurem Ammon und 0,1 % Leucin.
12. Gelatine 10 % mit 0,5 % Pepton.

Ergebnis am 18. August 1910.

1. Nichts gewachsen. 2. Wenig Euglenen. 3. Euglenen in kleinen Häufchen, ziemlich hell, gelblich. 4. Kleine grüne Kolonie. 5. Schönes Wachstum, kräftig grün. 6. Leidliches Wachstum. 7. Nichts. 8. Kleine grüne Punkte. 9. Gute Ausbreitung, üppiges Wachstum. 10. Nichts. 11. Kleine tiefgrüne Kolonie. 12. Dichter dunkelgrüner Fleck ohne Ausbreitung.

26. August 1910.

Ähnlich, 6 hat sich verbessert, 9 am besten.

Am 12. September hat sich besonders 3 sehr gut entwickelt. Am 25. Oktober ist dieses Röhrchen über und über grün, üppiger sogar als 9. Bei 1 ist noch Wachstum eingetreten, wenn auch nicht stark, bei 11 dicker grüner Klumpen.

Aus den Versuchen dieses Abschnittes wären folgende Schlüsse zu ziehen:

Agar mit Ammonsalz eignet sich gut zur Weiterzüchtung der Euglenen, da diese sich über die Oberfläche ausbreiten und dadurch sich weniger gegenseitig stören, als bei dichtgedrängtem Wachstum. Sehr gut sind für denselben Zweck auch Asparaginagar und die Abkochungen von Erbsen und Mais. Die Salze der Apfelsäure (und die der Wein- und Zitronensäure) verhindern die Ausbreitung und erlauben kein sehr gutes Wachstum. Daran ändert auch ein Zusatz von Pepton oder Leucin nichts. Eine Förderung durch Zucker konnte bei bakterienfreier Kultur nicht beobachtet werden, wohl aber dann, wenn Bakterien auftraten, eine Erfahrung, die später noch wiederholt gemacht wurde. Fleischextrakt erweist sich als sehr förderlich, Pepton weniger. Gelatine ist unbrauchbar. Sie ernährt erst, wenn sie durch Bakterien verflüssigt ist.

F. Kulturen in Nährsalzlösungen.

In den Kulturen auf gallertig erstarrten „festweichen“ Nährböden läßt sich die Vermehrung besser verfolgen als in Flüssigkeiten. Auch treten dabei manche Unterschiede in der Art der Ausbreitung und

Koloniebildung hervor, wie das oben geschildert wurde. Doch sind die Versuche in ernährungsphysiologischer Hinsicht nicht so ausschlaggebend, weil selbst der gewässerte Agar wohl noch ausnutzbare Bestandteile enthält, eine Unsicherheit, die bei Flüssigkeitskulturen fortfällt.

Die nun zu beschreibenden Experimente sollten folgende Fragen aufklären:

1. Läßt sich mit rein autotropher Ernährung, also in anorganischen Salzlösungen, eine gute Vermehrung erzielen, eine bessere vielleicht, als sie Zumstein gelungen ist? (a. a. O. S. 179 und S. 188, 189).

2. Welche Säuregrade werden ertragen?

3. Wie steht es mit der Ausnutzung organischer Stoffe?

1. Autotrophe Ernährung.

Zumstein (a. a. O. S. 189) hat gefunden, daß eine rein anorganische Ernährung der Euglenen zwar möglich ist, stets aber nur mäßige Vermehrung erlaubt. Er benutzte nur Nitrat als Stickstoffquelle. Dies ist, abgesehen von eventuellen Zusätzen an Eisen- und Kalksalzen, neben der Reaktion der Lösung der Hauptpunkt, in dem sich Nährsalzlösungen unterscheiden können. Da er Ammonsalze nicht herangezogen hat, so läßt er die Frage offen, ob mit diesen nicht vielleicht ein besseres Wachstum erzielt werden kann als mit Nitraten. Für diese Vermutung spricht besonders auch die oft betonte Häufigkeit der Euglenenarten in ammoniakhaltigen Mistgrubenjauchen. Lemmermann[1]) z. B. spricht geradezu von einem „Euglena-Verein“ in ammoniakhaltigem Wasser. Aus solchen Beobachtungen könnte man auch auf eine Förderung durch alkalische Reaktion schließen.

Um diese Frage ihrer Lösung näher zu bringen, wurde ein Reihe von Versuchen angestellt, von denen der folgende als typisch mitgeteilt sei. Die benutzten Nährlösungen waren:

I. 11. Juli 1911:

1. $(NH_4)_2HPO_4$, $MgSO_4$, $KHCO_3$
2. $(NH_4)_2CO_3$, $MgSO_4$, K_2HPO_4
3. NH_4HCO_3, $MgSO_4$, K_2HPO_4
4. $(NH_4)_2HPO_4$, $MgSO_4$, K_2CO_3
5. $(NH_4)_2HPO_4$, $MgSO_4$, KH_2PO_4
6. KNO_3, $MgSO_4$, K_2HPO_4
7. KNO_3, $MgSO_4$, K_2HPO_4, 0,2 % $KHCO_3$
8. KNO_3, $MgSO_4$, KH_2PO_4

} je 0,1 %.

[1]) E. Lemmermann, Kryptogamenflora der Mark Brandenburg. Algen I, Leipzig 1910, S. 290.

Da es auf den Vergleich der Konzentration der Salze weniger ankam, wurde von der Verwendung von Molekularlösungen abgesehen. Es kamen überall $^1/_{10}$prozentige Lösungen zur Anwendung, außer bei Lösung 7, die 0,2 % $KHCO_3$ enthielt. Überall wurde ein ganz kleines Stückchen Gips zugefügt, um ein eventuelles Ca-Bedürfnis zu befriedigen. In Lösung 1, 3 und 4 entstand ein schwacher Niederschlag, in 2, 3, 4 und 7 schieden sich später wenig Kriställchen ab. Die Lösungen 1, 2, 3, 4, 6, 7 waren mehr oder wenig stark basisch, etwas stärker war die Alkalinität nur bei 2 und 4 durch die zugesetzten Monokarbonate. Lösung 5 war annähernd neutral, da das Ammoniumphosphat als sekundäres, das Kaliumphosphat als primäres Salz gegeben wurde. Lösung 8 war durch das sekundäre Kaliumphosphat schwach sauer. Um diese Reaktionsdifferenzen nicht zu verändern, wurde von einer Sterilisation der Lösungen abgesehen. Doch mögen die Lösungen ihre Reaktion später geändert haben, was auch ohne die Einwirkung der Organismen vor sich geht, indem die Monokarbonate bekanntlich Kohlensäure an die Luft abgeben, die Bikarbonate, welche anziehen, bis beide durch Tensionsausgleich mit der Atmosphäre sich gleich geworden sind. Der Grund des teilweisen Zusatzes von Karbonaten und Bikarbonaten war neben der Variierung der Reaktion und der Erprobung geeigneter Salze der notwendigen metallischen Elemente, die Idee, ob nicht vielleicht das leicht abspaltbare Kohlendioxyd der sauren Salze die Assimilation erleichtere. Eine Nitrifikation ist wohl trotz der mangelnden Sterilisation der Nährlösungen nicht eingetreten, da diese möglichst sauber hergestellt wurden. Auch geschah die Impfung mit der Aufschwemmung einer Reinkultur, die zu je 1 ccm in die 200 ccm betragenden Lösungen pipettiert wurde. Die Impfmenge war so groß, daß die sich phototaktisch ansammelnden Schwärmer bald zu beobachten waren. Aufstellung am Nordfenster.

Ergebnis am 13. Juli 1911:

1. Grüner Rand an der Zimmerseite. 2. Ansammlung um die am Boden liegenden Kryställchen. 3. Ähnlich wie 2. 4. Euglenen nicht zu sehen. 5. Grüner Fleck hinten und grüner Rand am Meniscus. 6. Wie 5. 7. Ebenso. 8. Schwacher grüner Rand, kein Bodenfleck.

17. Juli 1911:

1. Sehr mäßig, schwach grüner Rand und ganz wenig Satz. 2. und 3. ebenso. Bei 4. nichts. 5. Hübsch grüner Rand, grüner Klex am Boden hinten und Euglenen auch an der Wasseroberfläche. 6. Grüner Rand rings am Meniscus und grüner Fleck hinten am Boden. 7. Tief grüner Fleck hinten am Boden und schwacher Rand. 8. Viel Euglenen hinten am Rande und an der Oberfläche. Keine am Boden.

Es sind nun also deutliche Unterschiede im Wachstum zu erkennen. Lösung 4, die am stärksten alkalische, da K_2CO_3 stärker hydrolysiert ist als das $(NH_4)_2CO_3$ der Lösung 2, zeigt keine Vermehrung, die Euglenen sind tot. Die basische Reaktion ist unserem Organismus schädlich. Die sonst gleiche Lösung 1, die aber das primäre Karbonat enthält, erlaubt Vermehrung; die sich im Grunde von ihr nicht wesentlich unterscheidende Lösung 3 desgleichen. Auch 2 ist nicht zu stark basisch. Lösung 5, durch ihren Gehalt an saurem Phosphat neben sekundärem nahezu neutral, ist besser als die schwach basischen 1—3. Von den Lösungen 6—8 mit Nitratstickstoff ist 8 am besten, die schwach sauer ist. Die sich von ihr nur in diesem Punkte unterscheidende schwach basische Lösung 6 mit dem sekundären Phosphat an Stelle des primären ist nicht ganz so gut. Der Zusatz des neutralen Kaliumbikarbonates bei 7 macht demgegenüber keinen Unterschied. Es scheint also das Vorhandensein der leicht abspaltbaren Kohlensäure der sauren Karbonate keinen Vorteil zu bedingen. Ebenso sind Ammonsalze keine besseren Stickstoffquellen als Nitrate. Alle diese Unterschiede wurden später noch deutlicher.

Ergebnis am 21. Juli 1911:

1. Sehr wenig Euglenen am Boden. 2. Etwas mehr, dünner Rand und Bodensatz, hellgrün, schleimig. 3. Ähnlich wie 2. 4. Nichts, fortgetan. 5. Viel Euglenen, massenhaft Schwärmer in der Flüssigkeit, Rand am Meniscus, Euglenen steigen etwas (geotaktisch?) am Glase in die Höhe. Kaum Bodensatz. 6. Starker Satz, weniger Schwärmer, hellgrüner Ring am Meniscus. 7. Ganz ähnlich, aber Euglenen mehr gelblich. 8. Sehr viel Euglenen, viele schwärmen, gut phototaktisch.

29. Juli 1911:

1. Ganz dünner Rand am Meniscus. 2. Etwas mehr. 3. Wie 2. 4. —. 5. Haut an der Oberfläche, Satz, ein Teil der Euglenen schwärmt noch. 6. Dicker Satz. 7. Weniger und gelblich. 8. Massenhaft Schwärmer, gleichmäßig durch die Flüssigkeit verteilt, kein Satz, keine Haut.

21. September 1911:

1. Massenhaft Schwärmer. Der ganze Kolben grünlich gelb. Kein Satz. Schwacher Rand. 2. Kräftiger grünlichgelber Rand. Sonst fast nichts, nur wenig hell aussehende Schwärmer. 3. Ganz ähnlich. 4. — 5. Kräftiger Satz, wenig Schwärmer. 6. Ähnlich, Rand schwach, schleimig. 7. Kräftiger braungrüner Satz, keine Schwärmer. 8. Starker Satz und schwache Haut zu Boden gesunken, noch Schwärmer.

Aus dem Verhalten dieser Kulturreihe ergibt sich auch weiter die Überlegenheit der neutralen Lösung 5 gegenüber den alkalischen 1—3, was am besten am 21. Juli hervortrat, desgleichen ist die saure Lösung 8 besser als die schwach basischen 6 und 7. Besonders in

diesen Lösungen mit Nitrat wird die Förderung durch schwach saure Reaktion deutlich. Das Kaliumnitrat ist aber als physiologisch basisch zu bezeichnen, da durch Verbrauch des Nitrat-Jons die OH-Jonen sich anhäufen müssen. Würde das nicht berücksichtigt und würde man neutrale Lösungen verwenden, so könnte man leicht dazu kommen, die Ammonsalze für besser zu halten, als die Nitrate, wie mir das in einem Vorversuche geschehen ist. Bei Kultur 7 ist die gelbliche Färbung am 21. Juli und weiterhin gegenüber No. 6 offenbar darauf zurückzuführen, daß das Bikarbonat durch Abgabe von Kohlensäure die Lösung alkalisch gemacht hat. Es sind also Lösung 5, die durch Verbrauch des NH_4-Jons sauer geworden sein dürfte und die von vornherein saure Lösung 8 die besten. Man sieht daraus, daß die Reaktion der Lösung wichtiger ist als die Art der Stickstoffquelle. Auffallend ist die langsame Entwicklung der Kultur 1 zu beträchtlicher Üppigkeit. Auch hier mag wohl der Verbrauch des Ammonions einen Rückgang der Basizität bewirkt haben.

Im ganzen sieht man, daß bei geeigneter Mischung eine ganz gute Entwickelung der Euglenen auch in anorganischen Lösungen möglich ist, denn schon nach 10 Tagen waren Kultur 5 und 8 recht üppig, allerdings Anfang Juli, also bei bestem Lichte. Im Winter sind solche Kulturen kaum zu erzielen, selbst nicht am Südfenster.

Die Bedeutung des Ammoniaks und der Reaktion der Lösung wurde noch durch folgenden Versuch erprobt:

II. 10. Dezember 1910:

Erlenmeyerkolben durch Kork verschlossen, mit 0,1 % $MgSO_4$, K_2HPO_4 und $(NH_4)_2HPO_4$, dazu

1. 1 % NH_4HCO_3.
2. 0,1 % NH_4HCO_3.
3. 1 % $(NH_4)_2CO_3$.
4. 0,1 % $(NH_4)_2CO_3$. Nicht sterilisiert, Rohkulturen.

Ergebnis

am 14. Dezember 1910:	am 5. Januar 1911:
1. alles tot	—
2. einige Schwärmer	hübsch grün und gut phototaktisch.
3. alles tot	—
4. wie 2.	mehr braun als 2, aber auch ganz gut.

1 und 3 sind wegen zu hoher Alkalinität nicht brauchbar. 2 ist schwach alkalisch und deshalb noch brauchbar. 4 ist durch etwas stärkere Basizität offenbar an der Grenze der Schädlichkeit und hat sich auch weiterhin nicht so gut entwickelt wie 2.

Man kann daraus wohl schließen, daß basische Reaktion ungeeignet ist, sobald sie etwas stärker wird. Schwach sauere Reaktion ist jedenfalls förderlicher. Diese Frage ist aber nur mit organischen Nährlösungen weiter geprüft worden. Eine Ammoniakanhäufung an natürlichen Standorten dürfte jedenfalls für *Euglena gracilis* immer schädlich sein.

G. Reinkulturen in organischen Nährlösungen.

Was die Verwendbarkeit organischer Nährstoffe für *Euglena gracilis* anbelangt, so hat Zumstein (a. a. O. S. 187) eine Reihe von Versuchen mit Reinkulturen angestellt, die eine Orientierung über das Wichtigste erlauben. Vieles von seinen Angaben konnte ich bestätigen. In anderem weichen meine Ergebnisse ab. Auch sind nicht alle seine Behauptungen durch genügend sichere Beobachtungen gestützt.

Die Hauptresultate der Versuche von Zumstein mit organischen Stoffen sind folgende:

1. *Euglena gracilis* wächst in gewissen Lösungen mit organischen Stoffen sehr viel rascher und besser als ohne solche in rein anorganischen Salzgemischen.

2. Die Ernährung ist besonders günstig, wenn Pepton zugegen ist. Sie wird weiter gefördert durch Glukose und organische Säuren, besonders Zitronensäure, sodaß eine besonders gute Nährlösung neben den notwendigen Salzen etwa 1 % Pepton, 0,4 % Traubenzucker und 0,4 % Zitronensäure enthält.

3. Zitronensäure bis zu 2 % und mehr, wie überhaupt eine relative hohe H-Jonenkonzentration wird gut ertragen.

4. Bei üppiger Ernährung sowie im Dunkeln tritt eine Reduktion der Chromatophoren auf. Im ersteren Falle treten vereinzelt auch ganz farblose Individuen auf, die bei Lichtabschluß durchaus überwiegen. Doch wird die völlige Chlorophyllfreiheit nicht in einer einzigen Generation erreicht, sondern durch Aufteilung des Farbstoffes bei der Vermehrung erzielt.

Mir lag nun hauptsächlich an einer genaueren Feststellung der organischen Stoffe, die die Assimilation ersetzen können, also eine Vermehrung im Dunkeln erlauben, ferner lagen verschiedene Bedenken über die Bedeutung der Chromatophoren-Reduktion vor. Dann schienen mir gewisse frühere Beobachtungen an meinem Organismus mit der von Zumstein bei seiner Form gefundenen hohen Säureresistenz nicht recht vereinbar. Und schließlich interessierte mich die Verwendung solcher Lösungen, die den in der Natur vielleicht gebotenen ähnlicher wären, als die Zumsteinschen und das plötzliche massen-

hafte Auftreten mancher Euglenen erklären könnten. Hier kamen hauptsächlich bei der bakteriellen Zersetzung von Pflanzenteilen entstehende Substanzen und sogenannte Humusstoffe in Betracht. Was die Fäulnisstoffe anbelangt, so mußten jetzt natürlich in Gegensatz zu einem früheren Abschnitte Reinkulturen verwendet werden, und es mußte die unzersetzte Lösung mit der in einem gewissen Stadium der Zersetzung sterilisierten verglichen werden.

Was die Möglichkeit der Kultur in allerlei Pflanzenabkochungen u. dergl. anbetrifft, so liegen schon in meinen Rohkulturversuchen und den Impfungen auf Erbsen-, Maisagar und ähnlichem Erfahrungen vor, die durch solche mit bakterienfreien Flüssigkeitskulturen bestätigt werden. So erwiesen sich Abkochungen von Erbsen- und Maiskörnern als sehr brauchbar, solche von Mohrrüben und getrockneten Pflaumen dagegen nicht.

Einen Überblick über die Unterschiede zwischen Roh- und Reinkulturen, sowie über die Möglichkeit der Ernährung im Dunkeln gibt der folgende Versuch:

I. 15. Februar 1911:

Ernährungsversuch mit *Euglena gracilis* in Rein- und Rohkultur, am Lichte und im Dunkeln.

200 ccm-Erlenmeyerkolben mit 100 ccm Flüssigkeit. Je vier Kolben folgender Nährflüssigkeiten:

1. 0,1 % Fleischextrakt.
2. ebenso + 0,5 % Glukose.
3. 0,1 % $MgSO_4$ + 0,1 % KH_2PO_4 + 0,1 % $(NH_4)_2HPO_4$ + 0,5 % Glukose.
4. 0,1 % $MgSO_4$ + 0,1 % KH_2PO_4 + 0,1 % Pepton + 0,5 % Glukose.
5. Erbsenfaulflüssigkeit[1]).
6. ebenso + 0,5 % Glukose.
7. ebenso + 0,1 % Pepton.

Von den je vier gleichen Kolben wurden a und b mit phototaktisch angesammelten Schwärmern aus einer Rohkultur geimpft, c und d aber aus einer Reinkultur. Alle standen anfangs am Lichte, am 6. März, also nach drei Wochen, kamen b und d ins Dunkle.

Ergebnis am 17. Februar 1911:

Nach zwei Tagen die mit Rohkultur beimpften Kolben von Bakterien getrübt.

---

[1]) Hergestellt durch Faulenlassen von gekochten Erbsen in Wasser nach Impfen mit Erde bis zur Klärung und Geruchlosigkeit, Sterilisieren und Filtrieren.

8. März:

Lichtkulturen:

1a. Sehr grün. 1c. Ganz kleine phototaktische Ansammlung, tiefgrün.
2a. Bakt. und Pilze, Eugl.? 2c. Wie 1c.
3a. Pilze, etwas grün. 3c. Eugl.? —
4a. Pilze und Bakt., Eugl.? 4c. Ganz dünner grüner Rand hinten.
5a. Wie 1a. 5c. —.
6a. Sehr viel Bakt. und wenig Eugl. 6c. —.
7a. Wie 1a. 7c. Eugl. gut.

26. März:

Lichtkulturen:

1a. Sehr grüner Bodensatz. 1c. Zahlreiche Schwärmer, hellgrün.
2a. Bakt. und Pilze, wenig Eugl. 2c. Wie 1c.
3a. Sehr grün, viel Schwärmer, wenig Pilze. 3c. —.
4a. Nur Pilze und Bakt. 4c. Wenig Euglenen-Schwärmer.
5a. Schön grün, massenhaft Eugl. schwärmend. 5c. Besser als die anderen Reinkulturen, sehr üppig.
6a. und c. —.
7a. Wie 5a. 7c. Wie 5c.

Dunkelkulturen:

1b. Dünner grüner Bodensatz und grüner Rand am Meniskus. 1d. Wie 1c, aber weniger.
2b. Wie 2a. 2d. Wie 1d.
3b. Bakt. und Pilze, ganz wenig Eugl. am Rande. 3d. —.
4b. Nur Pilze. 4d. Ganz wenig Eugl. schwärmend.
5b. Reiner grüner Satz. 5d. —.
6b. Bakt., wenig Eugl. 6d. Nur Bakt.
7b. Wie 5b. 7d. —.

21. April:

Lichtkulturen:

1a. Olivgrüner, reichlicher Bodensatz. 1c. Ockerfarbiger Rand am Meniskus.
2a. Bakt. und Pilze, Bodensatz helloliv. 2c. Wie 1c.
3a. Pilzmyzel durch Eugl. grün. 3c. —.
4a. Pilze, Bakt., ganz wenig gelbgrüne Euglenen. 4c. Satz ockerfarbiger Eugl.
5a. Wie 1a. 5c. Hübscher gelbgrüner Bodensatz, am meisten von allen Reinkulturen.
6a. Wie 1a. 6c. Niederschlag von Euglenen noch fahler als bei 1c, etwa isabellfarben.
7a. Wie 1a. 7c. Fast wie 5c.

Dunkelkulturen:

1b. Dünner grüner Bodensatz und grüner Rand, am grünsten von allen Dunkelkulturen. 1d. Sehr viel Schwärmer, dünner gelber Rand am Meniskus.

2b. Viel Bakt. und Pilze, keine Eugl. 2d. Wie 1d.
3b. Wie 2b. 3d. —.
4b. Massenhaft Pilze, keine Eugl. 4d. Schwärmer sehr reichlich, kein Bodensatz und kein Rand.
5b. Kräftiger braungrüner Satz. 5d. —.
6b. Viel Bakt, gelbgrüner Rand. 6d. —.
7b. Kräftig grüner Satz. 7d. —.

Aus diesem Versuche sind folgende Schlüsse zu ziehen:

1. Fleischextrakt erlaubt gutes Wachstum am Licht und im Dunkeln, in Rein- und Rohkulturen. Die Euglenen schwärmen im Dunkeln viel länger.

2. Wird Glukose hinzugesetzt, so wachsen in Rohkulturen die Faden- und Spaltpilze stärker, während Reinkulturen dadurch weder im günstigen noch im ungünstigen Sinne beeinflußt werden.

3. Glukose in Nährsalzlösung mit Ammonphosphat als Stickstoffquelle ist recht ungünstig. Reinkulturen gedeihen darin garnicht. In Rohkulturen können die Euglenen sich vermehren, wenigstens am Lichte. Auch Zumstein (a. a. O. S. 177) fand, daß mäßige Bakterienentwickelung unter Umständen günstig wirkt. Vgl. auch S. 16 und Fig. 5. Das Pilzmyzel wirkt irgendwie chemotaktisch auf sie. Offenbar produzieren die Pilze Stoffe, die zur Ernährung der Euglenen brauchbar sind und sie anlocken. Durch Bakterien zersetzte Zuckerlösungen haben in anderen Fällen sogar recht üppige Entwickelung ergeben.

4. Dieselbe Nährlösung mit Pepton an Stelle von Ammonphosphat ist besser und erlaubt Vermehrung im Dunkeln. In Rohkulturen werden aber natürlich die Pilze und Bakterien stark gefördert.

5. Erbsenfaulflüssigkeit ist wenigstens am Lichte sehr günstig und wetteifert dann mit Fleischextrakt. Für Dunkelkulturen ist sie nicht geeignet.

6. Zusatz von Glukose zum vorigen ist ohne Wirkung bis auf die Förderung der fremden Organismen.

7. Erbsenfaulflüssigkeit mit Pepton ist am Lichte ganz ähnlich, im Dunkeln ist es für Rohkulturen besser als mit Zucker, für Reinkulturen ist der Ausfall auffallender Weise schlecht.

Hervorzuheben ist aus diesen Ergebnissen vor allem die Eignung der Faulflüssigkeit für Euglenen gegenüber der Unbrauchbarkeit der Glukose, ferner die Erhaltung der Schwärmfähigkeit im Dunkeln, alles oft wiederholte Erfahrungen.

Um die von Zumstein (a. a. O. S. 191) als besonders geeignet empfohlenen Nährstoffe zu prüfen und die optimale Konzentration derselben zu ermitteln, wurde der folgende Versuch angestellt.

Er sollte hauptsächlich zeigen, ob die Unbrauchbarkeit der Glukose im vorigen Versuche Zufall war und ob die von mir kultivierte *Euglena gracilis* gleich der Zumsteinschen eine relativ hohe Säurekonzentration verträgt, da dieser Punkt mir bei den Rohkulturen recht zweifelhaft geworden war. Zu dem Zwecke nahm ich das eine gute Vermehrung garantierende Pepton in abgestufter Konzentration und setzte eine Vergleichsreihe mit Glukose an, indem ich annahm, daß die Förderung durch diese bei geringer Peptonmenge eher zum Vorschein kommen würde. Andererseits versah ich eine Versuchsreihe mit konstanter Peptonmenge und wechselndem Zitronensäuregehalt. Schließlich wurde auch der besonders günstige Fleischextrakt zum Vergleich herangezogen:

II. 29. April 1911:

A. Fleischextrakt:

a.	b.	c.	d.	e.
2,5	1,25	0,6	0,3	0,15 %.

B. Pepton:

2,5	1,25	0,6	0,3	0,15 %.

C. Pepton je 0,5 % + Zitronensäure:

2,5	1,25	0,6	0,3	0,15 %.

D. Glukose je 0,5 % + Pepton:

2,5	1,25	0,6	0,3	0,15 %.

Überall 50 ccm-Kölbchen mit 25 ccm Flüssigkeit, die noch 0,25 % $(NH_4)_2SO_4$, 0,05 % $MgSO_4$ und 0,05 % KH_2PO_4 zugesetzt erhielt. Reinkulturen, geimpft aus Ammonphosphatagarröhrchen. Nordfenster, meist heiteres Wetter.

Ergebnis am 8. Mai 1911:

A. a. und b. —. c. Grüner Fleck hinten und Schwärmer. d. Mehr Schwärmer, Fleck stärker grün. e. Kein Fleck, wenig Schwärmer.
B. a. und b. —. c. bis e. Ganz vereinzelte Schwärmer.
C. —
D. a. und b. —. c. Wenig Schwärmer. d. Etwas mehr. e. Beides weniger.

10. Mai 1911:

A. a. und b. Wenig Schw. c. und d. Schw. und grüner Fleck. e. Beides weniger.
B. a.—c. Unverändert. d. Etwas mehr Schw. e. Recht hübsch grün.
C. —.
D. a. und b. —. c. und d. Reichlich Schw. e. Weniger.

12. Mai 1911:

A. a. und b. Wie oben. c. Sehr üppig, je nach Beleuchtung, bald Flüssigkeit ganz grün, bald alle Eugl. phototaktisch angesammelt. d. Etwas weniger. e. Beträchtlich weniger Eugl.

B. a.—c. Unverändert. d. und e. Etwas weniger als A. e., Eugl. an der Oberfläche der Flüssigkeit.
C. a.—d. —, Impfmasse noch grün. e. Ganz wenig Schwärmer.
D. a. —. b. Ganz wenig Schwärmer. c. und d. Wie B. d., ganz hübsch grün. e. Etwas weniger.

15. Mai 1911:

A. a —. b. Viel Schwärmer. c. Noch mehr. d. Etwas weniger als c. e. Etwa wie b.
B. a. und b. Ganz wenig Schw. c. Etwas mehr. d. Grüne Haut an der Oberfläche, wenig Schw. e. Ähnlich, etwas mehr.
C. a.—d. —. e. Ziemlich viel Schw.
D. a. —. b. Ganz wenig Schw. c. und d. Viel, etwa wie B. e. e. Etwas weniger.

20. Mai 1911:

A. a. —. b. und c. Etwa gleich üppig. d. Beinahe ebenso. e. Unverändert.
B. a. und b. Unverändert. c. Wenig mehr. d. Hübsch grün. e. Gleichfalls. Beide mit guter Haut. Nicht ganz so üppig wie A. e.
A. a.—d. —. e. Hübsch grün, Schw. und Beginn einer Haut.
D. Unverändert.

29. Mai 1911:

Bei A. a. grüner Rand.

10. Juni 1911:

A. a. Dickgrün und Bodensatz.
B. a. Spärlich Schwärmer. b. Etwas mehr. c. Haut.
C. a.—c. —. d. Leidlich grün. e. Hübsch grün.
D. a. —. b. Wenig Schwärmer. c.—e. Gut grün.

23. Juni 1911:

A. Es ist nicht mehr zu sagen, welche Kultur die beste ist.
B. Unverändert.
C. Gleichfalls.
D. a. —. b. Wenig Schw. c. Gute Haut. d. und e. Unverändert.

6. Juli 1911:

A. a. Hat stärkeren Bodensatz als e. Bei a. und b. Schwärmer nicht zu sehen, da die Kolben durch festgesetzte Eugl. undurchsichtig sind. c. Zeigt viel mehr Schw. als d, dieser mehr als e.
B. Unverändert. c. Viel Schw. d.—e. Keine.
C. a.—c. —. d. Viel Schw. e. Massenhaft Schw.
D. a. Ganz wenig. b. Etwas mehr Schw. c. Wenig Schw., kein Satz, schöne Haut. d. und e. Spärlicher.

27. Juli 1911:

A. Überall dicker grüner Satz, am meisten bei c.
B. a. —. b. Grüner Rand über dem Meniscus. c. Ähnlich und Haut. d. Bodensatz und dünne Haut. e. Ähnlich.
C. a.—c. —. d. Viel Euglenen, aber Pilze. e. Dünner Rand und Haut.
D. a. —. b. Grüner Rand, Euglenen etwas in die Höhe gekrochen. c. Haut. d. Haut und Satz. e. Ebenso, aber weniger.

Der Übersichtlichkeit wegen wurden die Ergebnisse in die folgende Tabelle I gebracht, wobei freilich etwas Schematismus unvermeidlich war, sodaß die gleichen Bezeichnungen, die ja auf freier Schätzung beruhen, nicht überall ganz die gleiche Entwickelungshöhe angeben mögen, sondern etwas relative Werte veranschaulichen.

Als Ergebnisse möchte ich hervorheben:

1. Fleischextrakt ist zur Ernährung der *Euglena gracilis* besonders geeignet, und zwar vor allem in einer Konzentration von etwa $^1/_4$—$^1/_2$ %. Die Euglenen schwärmen lange.

2. Pepton ist nicht ganz, aber fast ebenso gut, besonders in den niederen Konzentrationen. Die Euglenen schwärmen weniger lange, halten sich mehr in den oberen Flüssigkeitsschichten auf und gehen schließlich in Form einer Haut oder eines Randes am Meniscus in den unbeweglichen Zustand über. Diese Beobachtung wurde auch schon in den Rohkulturen gemacht. Pepton stärkt also offenbar die Geotaxis. Nach Zumstein (S. 190) soll noch 10prozentige Peptonlösung gut geeignet sein. Bei mir wirkte schon solche von 1,25 % hemmend, das Optimum der Konzentration lag unter 0,6 %. Ähnliches gilt für Fleischextrakt.

3. Zitronensäure zu Pepton zugesetzt, hemmt selbst in einer Konzentration von 0,12% die Vermehrung. Bei 0,5 % ist schon kein Wachstum mehr möglich. Die Hautbildung wird verhindert, vielleicht aber nur auf Grund der Verzögerung überhaupt.

4. Glukose zu Pepton zugesetzt hat in der Konzentration von 0,5 % kaum irgend welchen Einfluß. Jedenfalls bewirkt es keine Förderung, höchstens in geringem Grade das Gegenteil.

Vergleicht man diese Resultate mit dem, was Zumstein angibt, so findet man eine Übereinstimmung nur in der Förderung durch Pepton und Fleischextrakt, die allerdings bei mir nur für viel niedrigere Konzentrationen galt. Die große Widerstandsfähigkeit gegen Säure, die dieser Autor konstatierte, besaß dagegen mein Euglenen-Stamm nicht. Während nach Zumstein noch 2 % Zitronensäure gut vertragen werden sollen, war bei mir die Grenze schon bei etwa 0,4 bis 0,5 % erreicht. Schließlich ist auch der Mangel einer Förderung durch Traubenzucker auffallend, da dieser in der kompleten Nährlösung Zumsteins zu dem besonders üppigen Wachstum beitragen soll. Diese und andere Differenzen gegenüber Zumsteins Befunden, auf die ich noch zu sprechen komme, erweckten in mir erst Zweifel über die Richtigkeit der Bestimmung meiner Euglenenart. Aus diesem Grunde wandte ich mich an Herrn Prof. Senn-Basel, da der leider verstorbene Herr Dr. Zumstein seine Arbeit im dortigen Institut ausgeführt hat. Herr Prof. Senn hatte die Freundlichkeit, mir zu be-

Tabelle I.

Versuch vom 29. April 1911.

	Fleischextrakt					Pepton					Pepton je 0,5 % + Zitronensäure					Glukose je 0,5 % + Pepton				
	2,5	1,25	0,6	0,3	0,15 %	2,5	1,25	0,6	0,3	0,15 %	2	1	0,5	0,25	0,12 %	2,5	1,25	0,6	0,3	0,15 %
8. V.	—	—	F+S+	F+S+	S+	—	—	S+?	S+?	S+?	—	—	—	—	—	—	—	S+	S+	S+?
10. V.	S+?	S+?	"	"	F+S+	—	—	"	S+	#	—	—	—	—	—	—	—	S#	S#	S+
12. V.	S+?	S+?	×	#	+	—	—	"	+	+	—	—		—	S+?	—	S+?	"	"	"
15. V.	—	S#	S×	"	#	S+?	S+?	S+	H+	H+	—	—	—	—	S+	—	"	"	"	"
20. V.	—	#	#	"	"	"	"	"	H#	H#	—		—	—	S+H+?	—	"	"	"	"
29. V.	R	"	"	"	"	"	"	"	"	"	—	—	—		"	—	"	"	"	"
10. VI.	#	"	"	"	"	"	S+	H+	"	"	—	—	—	+	#	—	"	#	#	#
23. VI.	#	#	"	"	"	"	"	"	"	"	—	—	-	+	"	—	"	"	-	-
6. VII.	×	×	×S#	×S+	×S+?	"	"	H+S#	H# S—	H# S—	—	—	—	S#	S×	S+?	S+	H#S+?	H+	H+
27. VII.	"	"	×	×	×	—	R	R+H	#H+?	#H+?	—	—	—	"	R+?H+	—	H+	H#	#H+	+H+?

F = phototaktischer Fleck am Boden.
S = schwärmende Euglenen.
R = Rand am Meniscus.
H = Haut an der Oberfläche.

— = nichts.
+? = wenig.
+ = mehr.
# = reichlich.
× = üppig.

stätigen, daß tatsächlich *Euglena gracilis* vorliegt, wofür ich ihm auch an dieser Stelle bestens danken möchte.

Es mußte also der von mir isolierte Stamm entweder einer in physiologischer Beziehung konstant abweichenden Rasse angehören oder durch das Vorleben modifiziert sein. Letztere Anschauung hatte mir früher[1]) vorgeschwebt, als ich fand, daß meine Euglena von der Zumsteinschen in reizphysiologischer Hinsicht abwich[2]).

Um diese Frage zu entscheiden, versuchte ich eine Anpassung an höhere Säurekonzentrationen zu erzielen. Gleichzeitig sollte dabei festgestellt werden, ob durch die Zitronensäure vielleicht nur das Ausschlüpfen der Euglenen verhindert wird, denn der Versuch vom 29. April war aus einer älteren Agarkultur geimpft worden, in der die Flagellaten sich mit einer Hülle umgeben hatten. Es wurde von der Kultur C. d. aus der vorigen Versuchsreihe geimpft, die mit 0,25 % Zitronensäure die größte Säure-Menge enthielt, die noch Wachstum erlaubte, und in der die Euglenen zur Zeit noch beweglich waren.

III. 16. Juni 1911:

Überall 0,25 % Fleischextrakt, dazu Zitronensäure: 0,1, 0,2, 0,5, 1 %, je zwei Kolben. Eine Reihe a. geimpft aus B. a. vom 29. April, also aus durch 0,05 % KH_2PO_4 sehr schwach saurer Lösung, die andere b. aus C. d. Ferner die Kölbchen C. a.—c. vom 29. April aus C. d. frisch geimpft.

Ergebnis am 23. Juni 1911:

Noch nichts gewachsen.

3. Juli:

a. 0,1 und b. 0,1 zeigen ganz wenig Schwärmer, vielleicht a. 0,1 etwas mehr, jedenfalls nicht umgekehrt. Die übrigen Kolben weisen keine Entwickelung auf.

8. Juli:

a. 0,1 deutlich besser als b. 0,1, die anderen nicht angegangen.

13. Juli:

Ebenso weiter.

Eine Gewöhnung läßt sich also nicht nachweisen. Sie dürfte nach dieser Erfahrung auch bei längerer Kultur in schwach sauren Lösungen ausbleiben. Auch ist es nicht allein das Ausschlüpfen, was durch die Säure gehindert wird. Beim Vergleich dieser Versuchsreihe mit der vorigen ist zu bedenken, daß 0,25 % Fleischextrakt durch

---

[1]) E. Pringsheim, Über die Herstellung von Gelbfiltern und ihre Anwendung zu Versuchen mit lichtreizbaren Organismen. Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. XXVIa, 1908, S. 565.

[2]) Th. Frank, Cultur und chem. Reizerscheinungen der *Chlamydomonas tingens*. Bot. Ztg. 1904, S. 32 ff.

die darin enthaltenen sauren Phosphate vielleicht ebenso hohe oder höhere H-Jonenkonzentration enthält als die Peptonlösung mit 0,05 % KH_2PO_4.

IV. An diese Experimente wurden nun weitere mit Fleischextrakt und Zusätzen von Zucker und Zitronensäure angeschlossen, die einige noch offen bleibende Fragen beantworten sollten. In dem Versuche III wurde folgendes angestrebt:

A. Es sollte bei zwei verschiedenen Fleischextraktkonzentrationen der Einfluß starker und schwacher Beleuchtung sowie völliger Finsternis erprobt werden, ferner sollte Zimmertemperatur mit der von 30° im Thermostaten verglichen werden. Die Versuche wurden Mitte Juni angesetzt, also in der hellsten Jahreszeit, die zudem im Jahre 1911 meist schönes Wetter brachte, und zwar an einem Süd- und einem Nordfenster.

B. Diese Reihe sollte zeigen, ob Glukose nicht vielleicht bei geringer Menge anderer organischer Nährstoffe fördernd wirkt, da 0,5 % Pepton vielleicht schon annähernd die bestmögliche Vermehrung gewährleistet. Sollte das am Lichte nicht der Fall sein, so könnte es doch im Dunkeln zutreffen, da der Zucker vielleicht die eigenen Assimilate zu ersetzen geeignet wäre. Deshalb wurde diese Versuchsreihe ganz wie die vorige (A.) angesetzt, bis darauf, daß überall 0,2 % Glukose hinzukam.

C. Die freie Zitronensäure hatte schon in geringer Konzentration hemmend gewirkt. Zumstein hat aber angegeben, daß sie ernährend wirkt. Wenn nun auch mein Stamm nicht soviel Säure verträgt, wie der Zumsteinsche, so konnte doch die Förderung an sich auch für den ersteren gelten, wenn die Zitronensäure in neutraler Lösung geboten wurde. Auch hier wurden im übrigen die Bedingungen der beiden Reihen A. und B. innegehalten, da ja die Nährkraft der Zitronensäure wie die der Glukose vielleicht eher bei geringer Menge anderer organischer Stoffe oder im Dunkeln zum Vorschein kommen konnte.

Der Versuch vom 13. Juni wurde leider durch die Fremdinfektion einiger Kölbchen gestört, deshalb wurde er am 22. Juni z. T. wiederholt, ohne daß dadurch die wesentlichen Resultate sich geändert hätten. Diese bestehen in folgendem (Tab. II):

A. Fleischextrakt ergab wieder sehr gute Ernährung, besonders bei intensiver Beleuchtung. Die Kulturen am Nordfenster blieben anfangs gegen die am Südfenster ein wenig zurück. Auch im Dunkeln ernährt Fleischextrakt sehr gut. Natürlich ist hier die Verzögerung noch größer. Die Euglenen schwärmen im Dunkeln sehr lange, und zwar monatelang, während sie am Lichte etwa nach 8—14 Tagen zur Ruhe kommen. Diese Erfahrung habe ich sehr oft gemacht. Im Thermostaten bei 30° im Dunkeln kann anfangs eine etwas schnellere

Tabelle II.

	A. Fleischextrakt								B. 0,2 % Glukose + Fleischextrakt								C. 0,1 % Zitronensäure, neutralisiert + Fleischextrakt							
	0,5 %				0,1 %				0,5 %				0,1 %				0,5 %				0,1 %			
13. VI.	Süd	Nord	Dunk.	Therm.	Süd	Nord	Dunk.	Therm.	Süd	Nord	Dunk.	Therm.	Süd	Nord	Dunk.	Therm.	Süd	Nord	Dunk	Therm.	Süd	Nord	Dunk	Therm.
19. VI.	++	S+	S+?	—	F+	F+	S+?	Pilz	++	S+	S+	Bakt	F+	S+	S+	Pilz	S+?	S+?	S+?	—	S+?	—	S+?	Bakt.
21. VI.	++	+	Bakt.	S+	++	+	S+?	—	++	+	?	—	++	+	?	—	++	S+?	?		—	—	?	—
23. VI.								S+																
26. VI.	×	+	+	+	++	++	+	S++	++	++	+	—	++	+	+	—	++	+	S+?		S+?	—	S+?	—
3. VII.	×				+		—		++				++				++				+			
13. VII.	×	×	Bakt.	?	F+	F+	—	S++	×	F+	Bakt.	?	F+	F+?	Bakt.	?	++	++	S+?	?	F+	F+	S+?	?
22. VI.	Wiederholt								Wiederholt															
26. VI.	S+?	S+?	—	S+					S+?	S+?	S+?	S+												
29. VI	+	+	S+?	S+					+	+?	S+?	S+												
3. VII.	++	+	S+	S+					++	+	S+	S+												
13. VII.	++	+	S+	S+					++	+	S+	S+												

Zeichenbedeutung wie bei Tab. I.

Entwickelung beobachtet werden, als sogar am Lichte bei Zimmertemperatur. Die Vermehrung ist aber nie sehr üppig[1]).

B. Ein Zusatz von 0,2 % Glukose bewirkt keinerlei Veränderung, jedenfalls keine Verbesserung, weder am Lichte noch im Dunkeln. Dieses Ergebnis bildet eine Bestätigung der Erfahrungen aus den Versuchen vom 15. Februar und 29. April 1911.

C. Zitronensäure begünstigt die Vermehrung der Euglenen auch dann nicht, wenn sie in geringer Konzentration geboten und neutralisiert wird. Sie wirkt im Gegenteil auch dann noch hemmend. Wenn nun dabei auch vielleicht die weniger günstige Wirkung der mit Soda neutralisierten Lösung gegenüber der schwach sauren mit Fleischextrakt allein in Betracht kommen kann (vgl. S. 25), so kann doch wohl von einer Förderung des Wachstums durch Zitronensäure nicht die Rede sein.

Nach diesen Ergebnissen war es wohl überflüssig, Versuche mit reinen Zucker- und Zitronensäurelösungen anzustellen, wie sie Zumstein (a. a. O., S. 190) unternommen hat. Es ergibt sich wieder eine Differenz gegenüber den Resultaten dieses Autors, die ich mir nur dadurch erklären kann, daß ich eine andere physiologische Rasse in der Hand gehabt haben muß. Die ernährungsphysiologisch merkwürdigen und überraschenden Befunde Zumsteins an seiner *Euglena gracilis* gelten also für die meine nicht, die sich vielmehr nicht wesentlich von anderen mixotrophen Organismen, z. B. von *Chlamydomonas*arten[2]) oder *Haematococcus* (nach noch zu veröffentlichenden Resultaten) unterscheidet.

Danach kann *Euglena gracilis* bei gutem Licht und autotropher Ernährung oder bei Darbietung organischer Stickstoffverbindungen auch bei schwachem oder mangelndem Lichte gedeihen. Besonders geeignet erweisen sich Erbsenwasser, Pepton und Fleischextrakt mit ihrem Gehalt an Peptonen, weniger Aminosäuren, garnicht Kohlehydrate und organische Säuren (soweit geprüft).

H. Die Reduktion der Chromatophoren.

Nach Zumstein (a. a. O. S. 184) läßt sich der Verlust des Chlorophylls auf zweierlei Weise erzielen: „Entweder durch Verdunkelung einer vorher am Licht gehaltenen Kultur, oder am Licht durch Zugabe sehr reicher organischer Nahrung". Der erste Vorgang erinnert sehr an die Entstehung chlorophyllfreier Teile beim Etiolement höherer Pflanzen. Besonders „üppige" Ernährung ist dazu nicht er-

[1]) Ähnliche Erfahrungen macht man mit Pilzen und Bakterien, die nahe dem Maximum der Temperatur mehr isantagonistische Stoffe bilden als bei geringeren Wärmegraden.

[2]) Jacobsen, H. C. J., Kulturversuche mit einigen niederen Volvocaceen, Zeitschr. f. Bot., Bd. 2, 1910, S. 145.

forderlich, falls überhaupt Vermehrung möglich ist. Die zweite Methode liefert immer nur wenige Individuen mit reduzierten Chromatophoren unter sehr vielen normal grünen. Bei der allmählichen Erschöpfung der Nährlösung verschwinden die farblosen Euglenen ganz. Ob durch rechtzeitiges Übertragen derselben in frische Nährlösung derselben Art auch ganz farblose Kulturen erzielt werden können, bleibt noch zu untersuchen.

Nun hat Reichenow[1]) mit *Haematococcus* und im Anschluß, daran auch mit *Euglena sanguinea* und *gracilis* einige Versuche angestellt, um die Ursachen der Haematochrombildung aufzudecken. Die an *Haematococcus* eingehend behandelte Frage führte zu der Lösung, daß ein Mangel an assimilierbarem Stickstoff und in geringerem Maße auch der von Phosphat die Reduktion des Chlorophylls unter gleichzeitiger Entstehung des roten Farbstoffes bewirkt. Bedingung dafür ist die Versorgung mit den übrigen Nährstoffen. Eine unter solchen Umständen rot gewordene Kultur kann durch Zusatz von Stickstoff und Phosphor wieder zum Ergrünen gebracht werden. *Euglena sanguinea* trat in rein roter Form ohne Chlorophyll in einer Kultur auf, die Traubenzucker in Molischs Nährlösung enthalten hatte, nachher aber durch Algenwachstum bis zu dessen Stillstand erschöpft worden war.

Für *Euglena gracilis* liegt nur ein Versuch von Reichenow vor. In einer Nährlösung von 0,05 % Traubenzucker, 0,02 % Zitronensäure, 0,002 % $MgSO_4 + 7\ H_2O$ und 0,005 % KH_2PO_4, also ohne eigens zugesetzten Stickstoff, waren nach neun Tagen die ersten Spuren roten Farbstoffes zu sehen, die nach mehreren Wochen sich beträchtlich vermehrt hatten. Die Chloroplasten waren stark reduziert (vgl. Abb. 11 Tafel I der angeführten Arbeit).

Wie Reichenow (a. a. O. S. 17) betont, läßt sich dieser Fall mit den Ergebnissen Zumsteins nicht recht in Übereinstimmung bringen, denn weder von Dunkelheit noch von besonders hoher Konzentration der Nährlösung konnte die Rede sein.

Die Ergebnisse Reichenows kann ich durchaus bestätigen. Ich fand eine Reduktion des Chlorophylls unter Hervortreten der gelben bis roten Farbstoffe bei mehreren Algen und Flagellaten, nämlich außer bei *Haematococcus pluvialis, Raphidium*arten und *Euglena gracilis* auch bei *Scenedesmus acutus*, und besonders bei einigen Cyanophyceen. Dieses „Etiolement aus Stickstoffhunger“ haben schon Molisch[2]) und Benecke[3]) an verschiedenen Algen beobachtet. Das

[1]) E. Reichenow, Untersuchungen an *Haematococcus pluvialis* nebst Bemerkungen über andere Flagellaten. Arbeiten aus dem kais. Gesundheitsamt, Bd. 33, 1909, S. 1. [2]) H. Molisch, Die Ernährung der Algen. Sitzungsber. d. kais. Ak. d. Wiss. in Wien. Math.-naturw. Kl. Bd. 104, Abt. 1, 1895. [3]) W. Benecke, Über Kulturbedingungen einiger Algen. Bot. Ztg. 1898, Bd. 56.

beste Mittel zur Erzielung dieses Farbenumschlages ist eine Erdabkochung ohne Zusatz von Nährsalzen. Der Befund an Blaualgen erinnert an die Ergebnisse von Magnus und Schindler[1]), die gleichfalls auf einen Nährsalz- und speziell Stickstoffmangel bei Oscillarien hin eine Reduktion des Chlorophyllgehaltes beobachteten. Ihre Resultate habe ich mit kleinen Abweichungen auch erhalten und komme in einer späteren Mitteilung darauf zurück.

Der Auszug aus Erde übt auf die meisten Algen, wie ja auch auf andere Organismen, eine die Vermehrung stark fördernde Wirkung aus. Der Gehalt an assimilierbarem Stickstoff darin ist aber sehr gering[2]). So erklärt sich wohl die besonders intensive Verfärbung in dieser Flüssigkeit bei verschiedenen Algen nach anfangs starkem Wachstum. Die Deutung der letztgenannten Autoren, daß das Chlorophyll reduziert werde, um eine Überhäufung mit Assimilationsprodukten zu verhindern, ist nicht von der Hand zu weisen (a. a. O. S. 319). Für sie spricht auch das Verschwinden des Chlorophylls aus allen Dauerzuständen der Algen und höheren Gewächse, die fast überall einer gelben, roten oder braunen Farbe Platz macht. Es liegt hier also offenbar eine weit verbreitete Erscheinung vor, wenn auch die Ökologie der Frage noch eingehender zu prüfen wäre.

Was nun im besonderen *Euglena gracilis* anbelangt, so liegt in der Kultur in Erdabkochung oder anderen Nährlösungen, die bei geringem Gehalt an Stickstoff die Vermehrung fördern, tatsächlich ein dritter Weg vor, fast chlorophyllfreie Zellen zu erzielen. Es wurden daher einige Versuche angestellt, um diese Frage weiter zu klären.

Wird eine im Autoclav hergestellter und sterilisierter Erdeauszug ohne weitere Zusätze, von der Farbe hellen Bieres, aus einer Reinkultur mit *Euglena gracilis* beimpft, so entwickeln sich die Flagellaten reichlich. Die Schwärmer fallen dem bloßen Auge schon durch ihre helle Farbe auf. Allmählich geht ein Teil der Euglenen in Ruhe über, wobei ein ockerfarbener Satz entsteht, doch finden sich nach vielen Monaten noch schwimmende Individuen. In einer Kultur vom 22. Juni 1911 z. B. waren noch am 18. Dezember 1911, also nach einem halben Jahre, viel schwärmende Euglenen vorhanden. In einer anderen vom 22. Juni 1911 war am 3. Juni 1912 ein reichlicher isabellfarbener Satz und immer noch einige Schwärmer. Bei mikroskopischer Betrachtung erweist sich der Bodensatz zusammengesetzt aus abgerundeten Euglenen mit sehr viel Paramylon, kleinen gelblichen schwer

---

[1]) W. Magnus und B. Schindler, Über den Einfluß der Nährsalze auf die Färbung der Oscillarien. Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 30, 1912, S. 314.

[2]) M. W. Beijerinck nach Stockhausen, Ökologie, Anhäufungen nach Beijerinck. Berlin 1907, S. 84.

zu erkennenden Chromatophoren und rotgelben bis roten Körnchen im Innern. Ganz ähnlich sehen die schwimmenden Individuen aus. Anfangs besitzen sie noch einen grünlichen Schimmer zwischen den Paramylonkörnern. Später ist von den Chromatophoren kaum mehr etwas zu erkennen. Die gelbliche bis bräunliche Farbe des Bodensatzes rührt von den Farbstoffkörnchen zwischen den Paramylonkörnern her.

Es wurden nun zu dem Erdeauszug verschiedene stickstoffhaltige Substanzen und Nährsalze zugesetzt, um zu sehen, ob ein jenem Extrakt fehlender Nährstoff den Mangel des Ergrünens bedingt:

I. 4. März 1912:

1. Erdeabkochung am Fenster.
2. " im Dunkeln.
3. " + 0,2 % KNO_3.
4. " + 0,2 % $(NH_4)_2HPO_4$.
5. " + 0,2% KNO_3 + 0,1 % $MgSO_4$ + 0,1 % K_2HPO_4.
6. " + 0,2% $(NH_4)_2HPO_4$ " "
7. " + 0,1 % Fleischextrakt.

Nach dem Sterilisieren ist 1—3 klar, 4—6 zeigt starken Niederschlag, 7 ganz schwachen. Die Niederschläge rühren wohl von Calciumphosphat her und werden nicht abfiltriert.

Ergebnis am 29. März 1912:

1. Viel Schwärmer. Mit bloßem Auge ist an ihnen keine Farbe zu erkennen (während solche etwa aus Fleischextraktlösung deutlich grün aussehen). Mikroskopisch zeigen sie sich hellgrün gefärbt, ohne Paramylon, zart durchsichtig, gut beweglich. An jedem Chromatophor das Pyrenoïd deutlich.
2. Nicht gewachsen.
3. Ähnlich wie 1, aber weniger Euglenen.
4. Weniger Schwärmer als bei 1, mehr als bei 3. Mit bloßem Auge keine Farbe zu sehen. Mikroskopisch ähnlich wie bei 1.
5. Ähnlich wie 1, aber Paramylon.
6. Schwärmer lebhaft grün mit wenig Paramylon.
7. Reichlich Schwärmer. Makroskopisch farblos, mikroskopisch hellgrün mit zahlreichen sehr kleinen Paramylonkörnern.

Ergebnis am 3. Juni 1912:

1. Ockergelber Satz und Schwärmer. Euglenen enthalten sehr viel Paramylon, gelbrote und rotbraune Körnchen. Chloroplasten klein, gelblich. An manchen Individuen kaum noch grüne Farbe.
2. —.
3. Olivgrüner Satz und wenig Schwärmer. Diese voll Paramylon, hellgrün mit roten Körnchen.
4. Dunkelgrüner Satz und Schwärmer. Euglenen lebhaft grün mit nicht viel Paramylon und wenig roten Körnchen.
5. Olivgrüner Satz und wenig Schwärmer. Ähnlich wie 3, aber ohne rote Körnchen.

6. Reichlich Schwärmer, unbewegliche Euglenen wegen des starken anorganischen Niederschlages mit bloßem Auge nicht zu sehen. Euglenen mikroskopisch lebhaft grün mit wenig Paramylon, ohne rote Körnchen.

7. Gelbgrüner Satz, sehr viel Schwärmer, üppigste Kultur. Die Euglenen bergen sehr viel Paramylon, sind nicht sehr grün, enthalten rote Körnchen und sind sehr beweglich. Die Kultur enthält wohl die größte Euglenenmasse, die ich in Reinkulturen bekommen habe.

Man ersieht aus diesem Versuche, daß es tatsächlich der Mangel an Nährsalzen, besonders an geeignetem Stickstoff ist, der das Ausbleiben der Chlorophyllbildung und die Erzeugung des roten Farbstoffes bedingt. In bloßem Erdeauszug ist die Vermehrung besonders anfangs sehr reichlich, stärker sogar als bei Zusatz von Nährsalzen, sodaß das Chromatophorenwachstum und die Erzeugung des Chlorophylls mit der raschen Teilungsfolge nicht Schritt hält, ähnlich wie bei üppiger Ernährung mit Pepton oder Fleischextrakt. Während in diesen Substanzen aber bald das Ergrünen eintritt, weil die organischen Stoffe verbraucht werden, vielleicht auch unter dem Einfluß von neugebildetem Ammoniak, wird der Erdeauszug immer ärmer an assimilierbarem Stickstoff und die Euglenen werden immer heller. Von einer besonders üppigen Ernährung in Erdeauszug, die diesen Fall der Entfärbung dem einen Zumsteinschen einordnen würde, kann auch deshalb nicht die Rede sein, weil in dieser Flüssigkeit keine Entwickelung ohne Licht möglich ist.

Ein Zusatz von Kalisalpeter verlangsamt den Prozeß des Erblassens. Die Chromatophoren werden jedoch ziemlich hell. Es wird auch noch Hämatochrom gebildet. Kommen Magnesiumsulfat und Kaliumphosphat hinzu, so findet man keinen roten Farbstoff, während sonst nichts geändert wird.

Besser als Salpeter ist Ammonstickstoff geeignet, das Ergrünen hervorzurufen. Um auch noch die Entstehung des Hämatochroms zu unterdrücken, ist aber gleichfalls noch die Gegenwart der anderen Nährsalze notwendig. Jetzt ist von der entfärbenden Kraft des Erdeauszuges beim Vergleich mit reinen Nährsalzlösungen kaum mehr etwas zu erkennen. Die Aufspeicherung des Paramylons ist in allen Fällen ungefähr der Verfärbung entsprechend.

Die Kultur mit Erdeauszug und Fleischextrakt ist mit den anderen schwer zu vergleichen, weil der letztere ja auch etwas entfärbende Wirkung hat und die Stoffmischung sehr kompliziert ist.

Schließlich habe ich noch einige Versuche mit ausgefaulten Abkochungen von Erbsen und Maiskörnern sowie mit Agar, der solche enthielt, angestellt. Auch hier waren die Euglenen, obgleich am Lichte erwachsen, mehr oder weniger entfärbt.

Die Erfahrungen aus diesem Versuche, die wiederholt gemacht

wurden, bestätigen die Ergebnisse von Reichenow. Gegenüber den Befunden von Magnus und Schindler ergeben sie insofern eine Ergänzung, als bei *Euglena gracilis* die Möglichkeit einer Verarmung an Chlorophyll nicht erst beim Aufhören der Vermehrung gegeben ist. Wie ich später zeigen werde, ist das in geringem Maße auch bei Oscillarien der Fall, sodaß ich es für berechtigt halte, die Erfahrungen an *Haematococcus*, *Scenedesmus*, *Raphidium*, *Euglena gracilis*, *Euglena sanguinea*, Cyanophyceen und anderen Algen zusammen zu fassen und zu verallgemeinern, wie das schon oben geschehen ist[1]): Eine Verarmung an Chlorophyll unter Hervortreten der gelben bis roten karotinartigen Farbstoffe findet bei Algen vielfach dann statt, wenn durch eine reichliche Vermehrung der Vorrat an verfügbaren Nährsalzen, besonders Stickstoffsubstanzen knapp wird.

Für die Ernährung im Dunkeln sind, wie auch Zumstein fand, Pepton Witte, Fleischextrakt, Erbsenwasser, also peptonhaltige Stoffe besonders geeignet. Dabei tritt stets eine Reduktion des Chlorophyllgehaltes auf, die aber ausbleibt, wenn keine Vermehrung stattfindet (vgl. auch Abschn. I, Versuch V S. 17). Die Euglenen sind nicht im Stande, im Dunkeln Blattgrün zu bilden, ganz so wie höhere Pflanzen. Man kann z. B. in Fleischextraktlösungen beliebig viele Generationen in völliger Finsternis ziehen. Die erste Dunkelkultur zeigt wohl noch einen grünlichen Schimmer in den Euglenen. Die späteren weisen nur völlig farblose Individuen auf, oder vielmehr die kleiner gewordenen Chromatophoren enthalten nur noch die gelben Farbstoffe, auch hierin an die Chloroplasten etiolierter Blütenpflanzen erinnernd. Schließlich können die Chromatophoren auch ganz verschwinden. Genau dasselbe findet in Erbsenwasser statt. Dabei haben die Euglenen aus Dunkelkulturen viel Paramylongehalt, mehr sogar, als wenigstens anfangs die aus Lichtkulturen. Das Paramylon stammt also nicht immer nur von der Kohlensäurereduktion her.

Wie wir schon früher gesehen haben, ist ein Wachstum im Dunkeln auch bei nicht besonders üppiger Ernährung möglich.

Es sei hier an die Kulturen auf schrägerstarrtem Agar verschiedener Mischung erinnert (vgl. S. 20). So werden z. B. die Euglenen fast völlig farblos bei Kultur im Dunkeln auf Maisagar, Maisfaulagar, Ammonphosphatagar.

Hauptsächlich der letzte Befund ist auffallend, denn es geht aus ihm hervor, daß die Euglenen dem Agar genug organische Stoffe entnehmen können, um eine merkliche Vermehrung zu erfahren. Es wurde deshalb an ihn noch eine Versuchsreihe angeknüpft, in der

---

[1]) Vgl. S. 3[7] u. O. Richter, Die Ernährung der Algen, Leipzig 1911, S. 56/57.

der Agar verschiedene Nährstoffe beigemischt erhielt. Auch wurde gewässerter Agar zum Vergleich mit dem im oben zitierten Versuche verwendeten ungewässerten herangezogen.

II. 24. April 1912:

1. Ungewässerter Agar mit 0,1 % $(NH_4)_2HPO_4$, 0,02 % $MgSO_4$ und 0,02 % K_2HPO_4.
2. Gewässerter Agar mit 0,1 % $(NH_4)_2HPO_4$, 0,02 % $MgSO_4$ und 0,02 % K_2HPO_4.
3. Ungewässerter Agar mit Erdeauszug, 0,1 % $(NH_4)_2SO_4$, 0,02 % $MgSO_4$ und 0,02 % KH_2PO_4.
4. Gewässerter Agar mit 0,1 % KNO_3, 0,02 % $MgSO_4$ u0, 02 % K_2HPO_4.
5. Ungewässerter Agar mit Erdeauszug, 0,1 % KNO_3, 0,02 % $MgSO_4$ und 0,02 % K_2HPO_4.

In Reagensgläsern schräg erstarrter Agar, geimpft durch Ausstreichen eines Tropfens aus einer Fleischextraktlösung mit viel Euglenen. Je ein Röhrchen am Nordfenster und eins im Dunkeln.

Ergebnis am 10. Mai 1912:

Hellkulturen:

1. Zahlreiche kleine grüne Punkte. 2. —. 3. Ähnlich wie 1, noch besser. Kondenswasser grün. 4. —. 5. Wenige winzige Punkte.

Dunkelkulturen —.

22. Mai 1912:

Hellkulturen:

1. Die Punkte größer geworden. 2. —. Frisch beimpft aus 3. 3. Schon ganz üppig. Kolonien größer ausgebreitet. 4. —. Frisch beimpft aus 3. 5. Unverändert.

Dunkelkulturen:

1, 3 und 5 zeigen zahlreiche gelbe Punkte; 2 und 4 —.

3. Juli:

Hellkulturen:

1. Kolonien trocken, tiefgrün, klein. 2. —. 3. Kolonien größer als bei 1, sonst ähnlich. 4. —. 5. Wie 1.

Dunkelkulturen:

1. Sehr viele zitronengelbe Punkte, Ausdehnung der Kolonien nicht geringer als am Licht. 2. —. 3. Wie 1. 4. —. 5. Wie 1. 1—3 nun ans Licht, nach 2 Tagen schon deutlich grünlich.

Der Versuch zeigt deutlich, daß irgendwelche Stoffe im Agar, die sich auswässern lassen, die Entwickelung der Euglenen stark fördern, während sie z. B. die Desmidiaceen so sehr hemmen[1]). Diese offenbar organischen Stoffe erlauben den Euglenen sogar Wachstum im Dunkeln, wobei die Natur der zugesetzten Nährsalze und sogar der Erdeauszug ziemlich gleichgültig ist[2]). Die bessere Entwickelung in 3 dürfte der schwach sauren Reaktion im Gegensatz zu

[1]) I. Mitt., Diese Beitr., Bd. XI, S. 323 u. 325.

[2]) Vgl. auch Versuch I vom 21. Juni 1910, S. 19.

schwach basischen der anderen Kulturen zuzuschreiben sein. Die Euglenen sind im Dunkeln chlorophyllfrei. Auch bilden sie unter diesen Umständen kein Hämatochrom. Die gelbe Farbe der reduzierten, „etiolierten" Chromatophoren bedingt das grellgelbe Aussehen der Kolonien, die am Lichte rasch ergrünen. Ganz ähnlich ist das Verhalten in solchen Flüssigkeitskulturen, die überhaupt im Dunkeln Entwickelung erlauben, nur daß die Veränderung der Farbe dem bloßen Auge dann nicht so deutlich ist.

Damit wäre das, was ich Zumsteins Beobachtungen über Chlorophyllschwund bei *Euglena gracilis* hinzuzufügen hätte, beendet. Man ersieht daraus, daß der Verlust des grünen Farbstoffes drei Ursachen haben kann, nämlich kurz gesagt:

1. Dunkelkultur. 2. Üppige Ernährung. 3. Stickstoffmangel.

Was das Vorkommen farbloser Individuen sonst grüner Euglenenarten in der Natur anbelangt, so dürfte der dritte Fall am ehesten Aussicht haben, verwirklicht zu sein. Im übrigen ist die Ökologie dieser höchst anpassungsfähigen Organismen recht verwickelt. Euglenen kommen besonders da vor, wo Pflanzenreste sich zersetzen. Bei Mangel an Nährstoffen runden sie sich ab und können so recht lange lebensfähig bleiben, um bei Zufuhr von Nahrungsstoffen zu neuer Tätigkeit zu erwachen. Auch durch Wassermangel z. B. in älteren Agarkulturen werden sie in einen Zustand latenten Lebens übergeführt, der sich von dem vorigen schon durch die Schleimhüllen um die Zellen unterscheidet. Dann aber ist ein Unterschied auch dadurch gegeben, daß die aus Mangel an Nahrungsstoffen unbeweglich gewordenen Euglenen in reinem Wasser nicht beweglich werden, sondern dazu einer geeigneten Nährlösung bedürfen, worüber ich zahlreiche Versuche angestellt habe[1]). Die bei Wassermangel eingekapselten Euglenen dagegen können durch Übergießen mit Wasser wieder zum Schwärmen gebracht werden. Dieselben Unterschiede habe ich bei *Chlamydomonas*arten und *Haematococcus pluvialis* beobachtet, deren Ökologie ganz entsprechend liegt. Wenn man also durch Übergießen trockenen Materiales von *Haematococcus* u. a. frische Schwärmer erhält, so stammt das Material aus eingetrockneten Tümpeln. Die zur Ruhe gekommenen „Akineten" aus alten Flüssigkeitskulturen schwärmen in Wasser nicht aus, auch wenn man sie nachträglich hat trocknen lassen. Es ist das auch sehr begreiflich. Die einen haben sich auf die Konzentrationszunahme der „Nährlösung" hin, vollgepfropft mit Reservestoffen, zur Ruhe begeben. Die anderen sind aufs äußerste ausgehungert. Entsprechend keimen Euglenen, die in Dunkelkulturen zur Ruhe gekommen sind, ohne Änderung der

[1]) Vgl. auch Zumstein a. a. O. S. 173.

Nährlösung am Licht aus[1]). Das Fehlende wird ergänzt, und der Organismus erwacht zu neuem Leben[2]).

J. Zusammenfassung.

Wenn ich am Schlusse einige Ergebnisse meiner Arbeit zusammenstelle, so geschieht das am besten, indem ich die Ergänzungen zu Zumsteins Befunden anführe und die Abweichungen im Verhalten meines Stammes von *Euglena gracilis* gegenüber dem seinen betone:

1. Aufgüsse von Pflanzenteilen bewirken die üppigste Entwickelung von *Euglena gracilis* in Gemeinschaft mit Bakterien und Pilzen.

2. Anorganische Nährsalzlösungen erlauben bei gutem Lichte ein vortreffliches Wachstum, falls nur die geeignete Reaktion, d. h. H-Jonenkonzentration innegehalten wird.

3. Reinkulturen sind durch Übertragen in saure Lösungen schwer zu erzielen, weil dann Faden- und Sproßpilze auftreten. Dagegen gelingt die Isolierung leicht durch Plattenguß, am besten mit 0,1 prozentigem Asparaginagar.

4. Zum Weiterzüchten der Reinkulturen empfiehlt sich 0,1 prozentiger Ammonphosphatagar oder Fleischextraktlösung von 0,5 % Gehalt.

5. Organische Stickstoffverbindungen, besonders Peptone, fördern das Wachstum stark, das dann auch im Dunkeln vor sich geht. Zucker und Zitronensäure erwiesen sich bei mir als wertlos.

6. Säure wird von meinem Euglenenstamme nur in geringer Menge ertragen. Doch ist schwachsaure Reaktion sehr förderlich, basische schädlich.

7. Eine Reduktion der Chromatophoren tritt nicht nur bei üppiger Ernährung und im Dunkeln ein, sondern auch bei Mangel geeigneter Stickstoffversorgung, falls sonst die Vermehrungsbedingungen günstig sind.

[1]) Zumstein, ebenda.

[2]) Die soeben erschienene Arbeit von Ch. Ternetz, Beitr. zur Morphologie u. Physiologie der *Euglena gracilis*, Klebs, Jahrb. f. wissensch. Bd. LI, 1912, S. 435, konnte leider nicht mehr berücksichtigt werden.

Inhalts-Übersicht.

A. Vorversuche 1
B. Rohkulturen in Aufgüssen von Pflanzenteilen 3
C. Rohkulturen in Lösungen von besser bekannter Zusammensetzung 10
D. Reinkulturversuche 14
E. Reinkulturen auf festem Substrat 19
F. Kulturen in Nährsalzlösungen 23
G. Reinkulturen in organischen Nährlösungen 27
H. Die Reduktion der Chromatophoren 38
J. Zusammenfassung 46

Figurenerklärung.

Tafel I *(Euglena gracilis).*

Fig. 1. Zu S. 7. Pergamenthülse mit Peptonlösung in euglenenhaltiger Flüssigkeit. Die Flagellaten sind über den Wasserspiegel emporgekrochen und bilden einen grünen Ring. Verkleinert.

Fig. 2. Zu S. 18. Lockere Kolonien auf Asparaginagar. Leitz Obj. 1*, Ok. I. Vergr. 17.

Fig. 3. Zu S. 18. Dichte, traubige Kolonie auf Agar mit Maisabkochung. Leitz Obj. 1*, Ok. I. Vergr. 17.

Fig. 4. Zu S. 19. Ausbreitung auf Asparaginagar bei Oberflächenimpfung. Leitz Obj. 1*, Ok. I. Vergr. 17.

Fig. 5. Zu S. 16. Förderung der Euglenen durch Bakterien (der schwarze Klex) auf Maisagar. Leitz Obj. 3, Ok. I. Vergr. 50.

Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen.

III. Mitteilung.

Zur Physiologie der Schizophyceen.

Von **Ernst G. Pringsheim.**

(Mit Tafel II.)

I. Einleitung.

„Unsere Kenntnis von den Lebens- und Kulturbedingungen der Cyanophyceen ist sehr lückenhaft". Mit diesem Bekenntnis beginnt Küster[1]) die Wiedergabe der vorliegenden Erfahrungen über die genannte Algengruppe. Seit Jahren hatte ich mir deshalb vorgenommen, sie zu ergänzen. Und aus demselben Grunde will ich die im folgenden zu machenden Angaben veröffentlichen, obgleich sie noch nach mehreren Seiten zu ergänzen sind.

Die Standorte der genannten Organismen sind bekanntlich sehr mannigfaltig, sodaß eine Einheitlichkeit in den Ernährungsbedürfnissen nicht erwartet werden kann. Selbst innerhalb der Gattung Oscillaria finden wir so verschiedene Fundorte angegeben, wie sie etwa steriler Sand einerseits, Schmutzwasser andererseits darstellen. Auch das Vorkommen in Flechten und in Hohlräumen höherer Pflanzen deutet auf die „Anpassungsfähigkeit" der Schizophyceen als Ganzes betrachtet. Daraus erklärt sich wohl auch z. T. die von Küster hervorgehobene Ungleichheit der Angaben über Kulturerfahrungen bei verschiedenen Autoren.

[1]) E. Küster, Kultur der Mikroorganismen. Leipzig und Berlin 1907, S. 110.

Die ersten Kulturversuche mit einer Nährlösung von einigermaßen bekannter Zusammensetzung stellte wohl Ad. Richter[1]) an. Seine Kulturflüssigkeit enthielt auf 1 l „Brunnenwasser" 5 ccm einer Lösung von

2 g $Ca(NO_3)_2$,
0,2 g K_2HPO_4
0,2 g $MgSO_4$
Spur Fe_2Cl_6

in 200 ccm Wasser. Darin wuchs eine Oscillarie 6 Monate hindurch. Was das „Brunnenwasser" enthielt, ist leider nicht zu ersehen. Die wichtigsten Merkmale der Nährlösung sind aber trotzdem deutlich. Sie bestehen in der Gabe des Stickstoffs als Nitrat, dem Calcium- und Eisen-Gehalt, der schwach alkalischen Reaktion und dem höchstens minimalen Gehalt an organischen Stoffen.

Die Versuche von F. A. Marx[2]) seien nur kurz erwähnt, weil es diesem Autor nicht auf das Gedeihen der Blaualgen, sondern nur auf die Feststellung morphologischer Veränderungen in verschiedenen Nährlösungen ankam. Bemerkenswert ist das Ertragen einer schwach sauren Reaktion durch die Oscillarien, wie sie durch 0,05% KH_2PO_4 hervorgerufen wurde.

Durch Verwendung sehr sorgfältig gereinigter Substanzen zu Nährlösungen von genau bekanntem chemischen Gehalt zeichnet sich die Arbeit von Molisch[3]) aus, in der auch Oscillaria-Arten als Versuchsobjekte Verwendung fanden. Er sagt (1896, S. 634): „Bringt man Spirogyra, Vaucheria, Cladophora, Oedogonium oder Oscillaria-Arten in eine Nährlösung von folgender Zusammensetzung:

1000 g H_2O
0,2 g KNO_3
0,2 g KH_2PO_4
0,2 g $MgSO_4$
0,2 g $CaSO_4$
Spur $FeSO_4$,

so gehen die Algen nach 1—3 Tagen entweder zugrunde oder beginnen zu kränkeln. Diese Lösung reagiert nämlich schwach sauer. Ersetzt man in derselben nur das sauer reagierende Monophosphat durch das alkalisch reagierende Dikaliumphosphat, so erhält die Lösung

---

[1]) Ad. Richter, Über Anpassung der Süßwasseralgen an Kochsalzlösung. Flora. Bd. 75, 1892.

[2]) F. A. Marx, Untersuchungen über die Zellen der Oscillarien. Inaug.-Diss. Erlangen 1892.

[3]) H. Molisch, Zur Ernährung der Algen (Süßwasseralgen). Sitzungsber. d. Kaiserl. Ak. d. Wissensch. zu Wien, Math., naturw. Kl. 1896, Bd. 104 Abt 1, und 1897, Bd. 105 Abt. 1.

hierdurch schwach alkalische Reaktion und die Algen bleiben gesund.“ Ob sie gut wachsen, ist aus der angeführten Stelle nicht zu ersehen. Die Lösung stimmt in den oben genannten wesentlichen Punkten, wie auch in der geringen Konzentration der Stickstoffquelle mit der von Ad. Richter überein.

Daß neben dem Sticksoff aus Nitraten auch der aus Ammonsalzen verwendet werden könne, soll nach O. Richter[1]) aus den Versuchen von Bouilhac[2]) hervorgehen. Da aber keine Reinkulturen vorlagen, ist dieser Nachweis nicht ganz genügend. Es könnte ja Nitrifikation eingetreten sein.

Tischutkin[3]) gibt an, neben vielerlei anderen Algen auch Oscillarien in Reinkulturen gewonnen zu haben, wenn er nach der Kochschen Methode Agarschalen mit ihnen beschickte. Das Material wurde mechanisch zerkleinert, gut ausgewaschen und in sterilem Wasser mehrfach verdünnt. Da genauere Angaben fehlen, ist die Feststellung, ob wirklich absolute Reinkulturen vorgelegen haben, nicht möglich. Auch unterblieb deren einzig fruchtbare Verwendung zu Ernährungsversuchen vor allem mit organischen Stoffen. Jedenfalls aber ist der Autor im Recht, wenn er sagt: „Ich stelle das Ergebnis fest, daß einprozentige Agarwasserlösung sich als sehr tauglich für den Wuchs und die Vermehrung der verschiedensten Algen erwiesen hat.“

Über das Nährsalzbedürfnis von Oscillarien sammelte Benecke[4]) einige Erfahrungen, die aber im Hinweis auf wohl nicht erfolgte spätere Veröffentlichung nur knapp mitgeteilt wurden. Er stellte fest (a. a. O. S. 87), daß *Oscillaria tenuis* auf schwach alkalische Reaktion angewiesen ist, und fand ferner, daß seine Blaualgen im Gegensatz zu den grünen Vergleichsobjekten merkwürdigerweise ebensogut wuchsen, wenn alles Kali durch Natronsalz ersetzt war. Die sonstige Zusammensetzung der Nährlösung kann ich aus der kurzen Bemerkung nicht ersehen. Vielleicht liegt nur eine besondere Anspruchslosigkeit der Oscillarien vor, die sich für die unbekannte Hauptfunktion der Alkalien im Stoffwechsel mit Spuren von Kalisalzen begnügten, während sich die Hauptmasse der erforderlichen Alkalien durch Natron ersetzen ließ.

---

[1]) O. Richter, Die Ernährung der Algen. Leipzig 1911, S. 57.

[2]) R. Bouilhac, Sur la fixation de l'azote atmosphérique par l'association des algues et des bacteries. Comptes rendues 1896.

[3]) N. Tischutkin, Über Agar-Agarkulturen einiger Algen und Amoeben. Centralbl. f. Bakteriologie. II. Abt. Bd. II. 1897.

[4]) W. Benecke, Über Kulturbedingungen einiger Algen. Botan. Zeitung, Bd. 56, 1898.

Im selben Jahre berichtete Bouilhac[1]) von Reinkulturen (?) von *Nostoc punctiforme*. Er will sie einfach durch wiederholte Überimpfung aus einer Nährlösung in die andere gewonnen haben, was unmöglich zu bakterienfreien Kulturen führt.

Bouilhac zog *Nostoc punctiforme* mit stickstoffbindenden Bakterien zusammen in einer Nährlösung, die auf

1000 ccm H_2O
0,2 g K_2SO_4
0,2 g $MgSO_4$
0,2 g K_2HPO_4
0,1 g $CaCO_3$

und eine Spur Eisenchlorid enthielt. Auch sie ist schwach alkalisch und enthält Calcium und Eisen. Den Stickstoff mußten die Bakterien liefern oder er wurde in Form von 0,1% $Ca(NO_3)_2$ zugesetzt. In derselben Lösung wuchs auch *Schizothrix lardacea*, das aber den von Bakterien gebundenen Stickstoff nicht auszunutzen vermochte.

Schließlich hat derselbe Autor seinen *Nostoc* mit Zucker auch in völliger Dunkelheit kultiviert, woraus auf eine Ausnutzung organischer Substanzen im Stoffwechsel geschlossen wird. Vielleicht war es der Zucker selbst, der verarbeitet wurde. Sicher ist dies wegen der Anwesenheit von Bakterien in der Kultur nicht, auf die möglicherweise selbst die festgestellte Gewichtsvermehrung allein zu schieben ist.

Beijerinck[2]) gelang die Anhäufung unbeweglicher Cyanophyceen, vor allem *Anabaena*-Arten, in Wasser mit 0,02% K_2HPO_4, dem auf 1500 ccm Lösung 1—2 g Gartenerde beigegeben war[3]). Er nimmt an, daß die betreffenden Formen den Stickstoff der Luft assimilieren, da die genannte Kulturflüssigkeit nur Spuren davon und noch dazu in schwer aufnehmbarer Form enthielte. Ob aber nicht, die Anspruchslosigkeit der betreffenden Formen für das Ergebnis verantwortlich zu machen ist, oder N-bindende Bakterien mitgeholfen haben, wurde nicht untersucht. Die genannten Arten wurden auch auf festem Substrate in Reinkultur gebracht, und zwar durch Ausstrich auf einen Agar, der in der Petrischale sehr sorgfältig ausgewaschen worden war und der dann durch Überschichten mit der

---

[1]) R. Bouilhac, Recherches sur la végétation de quelques algues d'eau douce. Thèse de Paris 1898. Ebenso comptes rendus de l'académie des sciences, Paris. t. 123, 1896 II und t. 125, 1897 II.

[2]) M. W. Beijerinck, Über oligonitrophile Mikroben. Centralbl. f. Bakteriologie, II. Abt., Bd. VII. 1901.

[3]) Ein genau nach Beijerincks Vorschrift angestellter Versuch lieferte dasselbe Resultat. Es traten auch *Nostoc*- und *Cylindrospermum*arten auf. Über die letzteren wird von anderer Seite berichtet werden.

0,02proz. Kaliumphosphatlösung gedüngt, aber nicht mit Stickstoff versehen wurde.

Die beweglichen Formen der Oscillarien wachsen nach Beijerinck weder in den beschriebenen Rohkulturen ohne Stickstoff, noch auf den Agarplatten. Sie konnten aber von seinem Schüler van Delden in Reinkultur gebracht werden, wenn der Agar mit Hilfe von destilliertem Wasser noch sorgfältiger ausgewaschen und dann mit Ammonnitrat gedüngt wurde. Leider ist über die Reinkulturen der verschiedenen beweglichen und unbeweglichen Cyanophyceen nichts genaueres mitgeteilt worden, Versuche mit organischen Stoffen wurden nicht angestellt, sodaß an der Bakterienfreiheit der Kulturen zu zweifeln ist.

Die Notwendigkeit, den Agar für Oscillarien so sorgfältig auszuwaschen, hat sich weder in den zitierten Versuchen Tischutkins ergeben, noch wird sie durch meine Erfahrungen bestätigt. Van Delden muß also eine besonders empfindliche Art benutzt haben.

Einige Beobachtungen an Kulturen von Blaualgen hat auch O. Richter[1]) (1908 und 1911) veröffentlicht. Reinkulturen sind ihm nicht gelungen. Er verwendete gewässerten Agar mit KNO_3, $CaSO_4$ $FeSO_4$, sowie sekundärem Phosphat, also schwach basischer Reaktion.

Ganz neuerdings haben Magnus und Schindler[2]) Angaben über Kulturen von *Phormidium autumnale* und *Oscillatoria formosa* gemacht, die sie auf Agar und Gipsplatten mit Nährlösungen zogen. „Als Nährlösung wurde eine etwas modifizierte Knopsche und die Molischsche mit und ohne Calciumsulfat verwendet. Auf diesem Nährmedium gedeihen bei alkalischer Reaktion die Oscillarien ausgezeichnet". Über die beobachtete Farbenänderung und die Stellung der genannten Autoren zu der Gaidukowschen „chromatischen Adaptation" komme ich weiter unten zurück. Es gelang, die Speziesreinkulturen frei von anderen Algen und Pilzen zu halten, jedoch nicht, sie frei von Bakterien zu bekommen. Ammonsalze scheinen die Nitrate als Stickstoffquellen ersetzen zu können, doch wurde das nur in bezug auf die Fähigkeit das Ergrünen herbeizuführen untersucht. Calcium war wohl auch da, wo es nicht zugesetzt wurde, genügend vorhanden.

Im ganzen kann man aus allen diesen Versuchen den Schluß ziehen, daß Cyanophyceen gut auf Agar gedeihen. Ob sie auch in Nährsalzlösungen ganz ohne organische Stoffe wachsen, ist nicht für alle Formen, aber nach Ad. Richters und Molischs Ergebnissen doch

---

[1]) O. Richter, Reinkulturen von Diatomeen. Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 21, 1903 und „Die Ernährung der Algen". Leipzig 1911.

[2]) W. Magnus u. B. Schindler, Über den Einfluß der Nährsalze auf die Färbung der Oscillarien. Ber. d. deutsch. bot. Ges. 1912, Bd. 30, S. 314.

für einige erwiesen. Überall war Nitrat zugegen, das also als N-Quelle geeignet ist. Ob Nitrit- und Ammonstickstoff auch verarbeitet werden können, ist nicht entschieden. Aus Beijerincks und Bouilhacs Befunden kann auf die Ausnutzbarkeit des von Bakterien gebundenen Stickstoffmaterials durch gewisse Cyanophyceen geschlossen werden. Ob er aber in Form von organischen Verbindungen aufgenommen wird, ist daraus nicht zu ersehen. Schwach basische Reaktion wird bevorzugt. Schwach saure ist tötlich, ohne daß über die Grenzen genaueres bekannt wäre.

Ob Calcium nötig ist, kann nicht klar ersehen werden, da es überall zugegen war. Das Gleiche gilt für das Eisen. Daraus ergeben sich also schon eine Anzahl Fragen. Noch richtiger wäre aber die Klärung des Verhaltens zu organischen Stoffen, sowohl stickstoffhaltigen wie stickstoffreien. Hiermit hinge dann auch die Möglichkeit ganz heterotropher Ernährung zusammen. Zu solchen Versuchen sind aber Reinkulturen nötig. Wenn auch die Gewinnung solcher von Beijerinck, Tischutkin und Bouilhac behauptet worden ist, so sind doch in den betreffenden Arbeiten keine Beweise für die Bakterienfreiheit der Kulturen enthalten, und noch weniger sind die oben gestellten Fragen in Angriff genommen worden. Es bleibt also noch manche Frage offen.

II. Erzielung der Reinkulturen.

Wie man aus der Übersicht im vorigen Kapitel ersieht, haben wir einige Anhaltspunkte für die Ernährungsphysiologie von Blaualgen, meistens Oscillarien. An diese galt es anzuknüpfen; doch war ich mir gleich darüber klar, daß eine Verallgemeinerung der an einer Form gemachten Beobachtungen auf die ganze Gruppe der Cyanophyceen bei deren biologischer Mannigfaltigkeit nicht erlaubt ist.

Bevor aber die Anpassung an so verschiedene Standorte wie verschmutzte Rinnsteine, heiße, schwefelwasserstoffhaltige, sonst reine Quellen, Auftrieb der Meere, nackte Felsen, Hohlräume in anderen Pflanzen, Flechten u. s. f. untersucht wird, muß man erst einmal an wenigen, leicht kultivierbaren Formen eingehende Studien machen. So nahm ich denn eine größere Anzahl von Arten in Kultur, die von verschiedenen Standorten stammten, indem ich die aus schmutzigen Gewässern bevorzugte, weil ich glaubte, daß sie weniger empfindlich sein würden. Es waren 16 Arten, unter denen Oscillarien vorherrschten, aber auch einzellige Formen sich befanden. Ferner waren dabei zwei *Nostoc*arten, ein *Cylindrospermum* und eine *Schizothrix*.

Von dem Material, das aus dem hiesigen zoologischen Garten, aus Schlamm aus der recht schmutzigen Saale in Halle, aus Tümpeln

im botanischen Garten und außerhalb, auch von feuchter Erde usw., stammte, stellte ich Rohkulturen an, die ich möglichst mit Wasser vom Ursprungsorte ansetzte. Die beweglichen Formen krochen am Glase empor und konnten so schon einigermaßen von der großen Masse anderer Algen getrennt werden. Nur die sich ähnlich verhaltenden Diatomeen waren auf diese Weise nicht zu entfernen.

Mit den zunächst zur Weiterzüchtung verwendeten gebräuchlichen Nährsalzlösungen hatte ich auch bei schwachbasischer Reaktion nicht viel Glück. Als sich eine auffallende Förderung durch Erde ergab, benutzte ich fernerhin einen im Autoklav hergestellten Auszug von Gartenerde. In diesem vermehrten sich die meisten Arten recht gut. Doch wurden sie schon nach relativ kurzer Zeit gelb und mißfarbig und stellten das Wachstum ein. Zwar konnte kurz nach der Verfärbung von solchem Material noch mit Erfolg weiter geimpft werden, doch waren die Kulturen nie sehr schön. Ich schloß daraus, daß irgend etwas fehlte und fand auch bald, daß ein Zusatz von 0,1% Kalisalpeter das Gedeihen wesentlich verbesserte. Mit dieser Nährlösung, die ich im folgenden als „Erdabk. + KNO_3“ bezeichnen will und die meist noch durch 0,02% $MgSO_4$ und 0,02% K_2HPO_4 ergänzt wurde, hatte ich ein Mittel in der Hand, von allen verwendeten Formen in relativ kurzer Zeit hübsche Kulturen zu erlangen.

Um nun die in dem Material gemischten Arten von einander und von Diatomeen zu trennen, benutzte ich zwei feste Nährböden, die sich ergänzten, nämlich zunächst mit Nährlösung getränkte Gipsblöcke und dann Agar in Petrischalen.

Die ersteren waren für den Anfang sehr günstig, weil auf ihnen die Oscillarien sich gut ausbreiteten und weniger aneinander klebten als in Flüssigkeitskulturen, so daß einzelne Fäden abgeimpft werden konnten, und weil die Diatomeen auf ihnen viel langsamer krochen als die Blaualgen, also hinter ihnen zurückblieben. Die Gipsblöcke wurden durch Eingießen des Breies in glasierte Porzellanschalen gewonnen. Sie waren also auf einer Seite gewölbt, auf einer flach. Die gewölbte Seite kam in den als Kulturgefäße benutzten Deckelschalen nach unten, die flache wurde möglichst glatt geschabt und nach dem Sterilisieren beimpft. Als Nährlösung diente die oben erwähnte (Erdabk. + KNO_3). Sie reichte etwa bis zur halben Höhe der oberen Fläche des Gipsblockes. Auf der weißen Gipsunterlage hoben sich die blau- oder graugrünen Cyanophyceenlager schön und charakteristisch ab, wobei jede Art ihren eigenen Habitus bewahrte. Pilze und Bakterien konnten sich dabei kaum vermehren.

Diese Gipskulturen lieferten dann auch meist das Ausgangsmaterial für die Agarplatten. Der Agar wurde anfangs mit der obengenannten Erdenährlösung angemacht. Es zeigte sich aber bald, daß

die Erdabkochung hierbei ohne Schaden fortgelassen werden konnte und daß das insofern besser war, als dann die Pilze weniger gut gediehen. Überhaupt waren zuerst die Verunreinigungen sehr störend, solange ich versuchte, nach der O. Richterschen Methode auf die Oberfläche des erstarrten Agars zu impfen. Hierbei zeigte es sich erst, wieviel fremde Organismen noch in den scheinbar so reinen Gipskulturen zugegen waren. Nachdem mit Hilfe dieser die Diatomeen und Grünalgen entfernt waren, störten auf dem Agar hauptsächlich Pilze, Bakterien und Amöben. Besonders auch die letzteren, die sich weit über die Oberfläche ausbreiteten[1]), waren sehr schädlich und konnten auch bei Verbesserung der Methode nur langsam zurückgedrängt werden. Auffallenderweise vermehrten sie sich auch dann noch stark, wenn von Bakterien kaum etwas zu sehen war und wenn auch die Cyanophyceen ganz spärlich wuchsen. Bei großen Formen der letzteren schien es zudem fast unmöglich, daß die Amöben von ihnen lebten. Ob hier nun doch Bakterien die Nahrung lieferten oder ob nicht vielleicht ungeformte oder doch leblose Nährstoffe aufgenommen wurden, habe ich nicht untersucht.

Die erwähnte Verbesserung des Isolierungsverfahrens bestand darin, daß ich zum Kochschen Plattengußverfahren überging. Eine kleine Menge des Impfmateriales wurde an der Innenwand eines Röhrchens mit geschmolzenem und auf 40° abgekühltem Agar mit der Platin-Iridiumnadel möglichst fein verrieben und mit dem Agar vermischt. Dabei blieben immer genug Zellen lebendig, die dann den Ausgangspunkt junger Kolonien bildeten. Wurden mehrere „Verdünnungen" hergestellt, indem etwa ein Kubikzentimeter der ersten Mischung in ein neues Röhrchen übertragen wurde, so war man sicher, später gut isolierte Fäden zu erhalten, die unter dem Mikroskop herausgesucht und abgeimpft werden konnten. Auf diese Weise konnten schließlich auch aus jedem beliebigen Organismengemisch die Oscillarien herausgezüchtet werden, die, abgesehen von den Diatomeen, sich stets lebhafter als alle anderen Algen vermehrten, offenbar weil sie durch ihr Bewegungsvermögen die ganze Agarmasse ausnutzen konnten. Ich erhielt so in den mit geeignetem Cyanophyceenmaterial gegossenen Schalen Kolonien von sehr verschiedenen Arten, die in allen Farben spielten, darunter auch sehr kleine bakterienähnliche Stäbchen, feinste Fädchen von sehr blaßgrünlicher Farbe sowie rosarote. Aber nur einige Formen zeigten ein so rasches Wachstum, daß die Weiterkultur lohnend schien. Die anderen, die bald zurückblieben, müssen späteren Untersuchungen vorbehalten werden.

---

[1]) M. W. Beijerinck, Über oligonitrophile Mikroben. Centralbl. f. Bakteriologie, Abt. II, Bd. VII, S. 570 ff.

Indem ich nun von den Agarplatten, die durch Guß erhalten waren und nur wenige kleinbleibende Bakterienkolonien zeigten, wiederholt neue Verdünnungen herstellte, hoffte ich schließlich zu bakterienfreien Reinkulturen zu gelangen. Trotz sehr langwierigen Versuchen, die mit Beharrlichkeit fortgeführt wurden, und trotzdem ich auch gewässerten Agar[1]) verwendete, der sich in meinen früheren Versuchen ebenso wie in denen O. Richters bewährt hatte, gelang es mir, so wenig wie diesem Forscher, mit der geschilderten Methode die Bakterien loszuwerden. Auch dann, wenn scheinbar ganz reine Kolonien vorlagen, erwiesen sie sich bei der Überimpfung in Agar mit Pepton oder Heydennährstoff als bakterienhaltig. Übrigens konnten die Bakterien auch direkt in den Petrischalen bei günstiger Beleuchtung und Betrachtung mit Obj. 4 von Leitz und Comp.-Ok. 12 gesehen werden. Sie machten sich nämlich durch ihr lebhaftes Wimmeln bemerkbar. Dabei erfüllten sie die von den Oscillarien gebahnten Schleimkanäle, von denen auch O. Richter[2]) spricht, und drangen stets selbst bis an die Spitze eines vorwärts kriechenden Fadens vor.

Schließlich kam ich in der Zurückdrängung der Spaltpilze wenigstens so weit, daß ich die Oscillarien auf die Oberfläche des erstarrten Nitratagars impfen konnte, und daß sie sich darauf üppig vermehrten, ohne von Bakterien überwuchert zu werden. Ein weiterer Fortschritt war so nicht zu erzielen. Ich glaubte schon, es sei überhaupt unmöglich, Reinkulturen zu erzielen, weil die Bakterien in den Schleimhüllen säßen und so eine mechanische Trennung vereitelten. Auch ihre Abtötung, etwa durch Gifte, durch Hitze oder dergleichen schien ohne Vernichtung der Cyanophyceen bei der Empfindlichkeit der Blaualgenzelle kaum möglich. Schließlich aber gelang die Aufgabe doch bei einigen Arten, und zwar mit Hilfe der kolloïdalen Kieselsäure. Nach diesen und anderen Erfahrungen kann ich der Bemerkung O. Richters[3]) nicht beistimmen, der gewässerte Agar leiste dasselbe wie die Kieselgallerte.

Die Herstellung des Kieselsäuregels geschah nicht in der üblichen Weise mit Hilfe der Dialyse eines flüssigen Gemisches von Wasserglas und Salzsäure. Diese umständliche Methode hätte bei

---

[1]) Das Ausfaulenlassen des Agars (E. Küster a. a. O. S. 38) brachte mir wenig Erfolg, da das Erstarrungsvermögen dabei sehr stark litt, offenbar durch Hydrolyse der Gelose. Ob diese unmittelbar der Tätigkeit besonderer Bakterien zuzuschreiben ist, oder nur als Folge der Entstehung irgendwelcher Stoffwechselprodukte aufgefaßt werden muß, bleibt zu untersuchen.

[2]) O. Richter, Reinkulturen von Diatomeen. Ber. d. deutsch. bot. Ges., Bd. 21, 1903, S. 496.

[3]) O. Richter, Die Ernährung der Algen. Leipzig 1911, S. 32.

dem großen Bedarf an Schalen kaum zum Ziele geführt. Ich mischte vielmehr die auf Grund des spezifischen Gewichtes entsprechend verdünnten Lösungen[1]) und goß sie in die Petrischalen. Über Nacht erstarrte die Mischung zur Gallerte und wurde nun ausgewaschen, indem die offenen Petrischalen mit Hilfe dazwischen geschobener Glasstreifen in einem großen Akkumulatorengefäß aufgebaut und mit Leitungswasser überrieselt wurden. Nach zwei bis drei Tagen war die Säure und das Kochsalz entfernt. In derselben Weise ist schon Beijerinck[2]) vorgegangen. Warum Stahel[3]) der Meinung ist, daß dies nur ein ungenügender Ersatz für die Winogradskysche Methode sei, kann ich nicht ersehen. Sein eigenes, umständliches Verfahren zeigt, wie wertvoll die Umgehung der Dialyse ist. Auch sind Nachteile kaum zu finden. Anfangs zeigten sich auf der Oberfläche der Gallerte bei mikroskopischer Betrachtung immer schwarzbraune Fädchen, deren Herkunft unklar war. Schließlich kam ich auf den Gedanken, sie möchten aus dem Leitungswasser stammen. Daher wurde dieses beim Auswaschen durch ein Wattefilter geschickt, das dann bald gelbbraun wurde. Diese Farbe rührte von verschiedenen Arten von Eisenbakterien her, wie die Betrachtung mit stärkeren Objektiven zeigte. Nun blieben die „Kieselplatten", wie ich sie der Kürze halber nennen will, rein.

Es war nur noch die Schwierigkeit der Sterilisation zu überwinden. Denn die Versorgung mit Nährsalzen war nach Überschichtung mit der betreffenden Nährlösung durch Diffusion leicht zu erreichen. Nach dem Abtropfen der überschüssigen Lösung versuchte ich die Sterilisation im Autoclav. Es ging auch, doch waren Risse und Blasen in der Schicht nicht zu vermeiden. Weniger stark war diese Störung beim Sterilisieren im Dampftopf, so daß sie zu einem bloßen Schönheitsfehler herabsank. Durch zweimalige Erhitzung war vollkommen sichere Abtötung aller Keime zu erreichen. Es scheint aber, daß auch einmalige Behandlung im Dampftopf genügt, vorausgesetzt, daß die Schalen in diesem langsam erkalten, sodaß keine neuen Keime eingesaugt werden können. Das ist auch begreiflich, denn in dem Kieselsäuregemisch werden alle lebenden Keime durch die Salzsäure getötet, und im Leitungswasser befinden sich kaum Sporen von Bakterien. Auch waren die Vermehrungsbedingungen für Bakterien und Pilze in solchen Schalen mit Kieselgallerte sehr ungünstig. Erst wenn Algen gewachsen waren, traten zuweilen durch nachträgliche Infektion „Schimmelpilze",

---

[1]) E. Küster, Kultur der Mikroorganismen. Leipzig u. Berlin 1907, S. 32.

[2]) M. W. Beijerinck, Das Assimilationsprodukt der Kohlensäure in den Chromatophoren der Diatomeen. Rec. trav. bot. néerland, Bd. I, 1904. S. 28.

[3]) G. Stahel, Stickstoffbindung durch Pilze bei gleichzeitiger Ernährung mit gebundenem Stickstoff. Jahrb. f. wissensch. Bot. Bd. 49. 1911, S. 585.

d. h. meist Penicillien auf, die sich aber fast ganz auf die Algenkolonien beschränkten, während in gewässertem Agar noch manche Pilzarten ganz gut gedeihen[1]).

Als Nährlösung wurde anfangs Erdabkochung mit Salpeter neben der reinen Salzlösung benutzt, die also 0,1 % KNO_3, 0,02 % $MgSO_4$ und 0,02 % K_2HPO_4 enthielt. Calcium und Eisen waren jedenfalls, falls sie notwendig sein sollten, vom Leitungswasser her genug vorhanden. Bald zeigte sich, daß bei den „Kieselplatten" die Erdabkochung keine Förderung des Wachstums der meisten Blaualgen bewirkte und durch die Begünstigung von Pilzen sogar schädlich war. In der Folge wurde also nur die reine Salzlösung der Kieselgallerte durch Diffusion einverleibt. Später wurde dann an Stelle des Salpeters auch Ammoniumphosphat [$(NH_4)_2HPO_4$] benutzt.

Auf solchen salpeterhaltigen Nährböden von kolloïdaler Kieselsäure gediehen die Blaualgen vortrefflich. Das meist zu einem Klümpchen geballte Impfmaterial von beweglichen Formen breitete sich im Laufe weniger Stunden zu einem zierlichen Netzwerke aus, das je nach der Art eine mehr oder weniger große Fläche überzog. Manche Formen konnten auf dem Kieselsäuregel weniger gut kriechen als auf Agargallerte. Sie zerbrachen dann in kurze Stücke, die durch langsame Ausbreitung einen vollkommen kreisrunden Bezirk besiedelten, und zwar so, daß die Peripherie dichtere Fadenmassen kurzer Stückchen aufwies, während die Innenfläche, die wahrscheinlich durch den ausgeschiedenen Schleim schlüpfrig geworden war, lange Fäden zeigte. Diese bildeten dann die für die meisten Oscillatoriaceen bezeichnenden Wirbel und Schleifen. Das Ganze bot schließlich durch sein seidiges Aussehen und die frisch blaugrüne oder graublaue bis schwärzliche Farbe einen hübschen Anblick.

Andere Arten nahmen durch lebhaftes Kriechen gleich im Anfang die ganze Fläche in Besitz, die sie zunächst mit einem ganz lockeren Netzwerk überzogen. Die Fäden schoben sich in feinen Mäandern zusammen, oft zu mehreren nebeneinander. Auch entstanden wieder Wirbel, Schleifen und vollkommene Spiralen. All diese Bildungen wiederholten sich in ganz ähnlicher Weise bei den einzelnen Arten, und auf dem Agar ebenso wie auf dem Kieselsäuregel. Nur daß letzteres ein Eindringen offenbar schwer gestattete, und daß auch die beim Agar oft vorkommende Besiedelung der Glasflächen unterblieb. Es mag das daran liegen, daß das kapillare Aufsteigen von Wasser hier nicht wie beim Agar eintrat. Die Kieselgallerte fühlt sich auch viel trockener an, sie nimmt das beim Sterilisieren ausgeschiedene „Kondenswasser" bald wieder auf.

---

[1]) Vgl. auch G. Stahel, a. a. O.

Vielfach konnte man in der Kieselgallerte Kriechspuren erkennen, ähnlich wie auf Agar. Die Erschwerung des Gleitens wurde aber dadurch deutlich, daß die Oberfläche kleine dreieckige Einreißstellen zeigte. Hier waren also die Fäden offenbar hängen geblieben und hatten durch mechanischen Zug im Vorwärtsgleiten die geringe Elastizität der Kieselgallerte zu stark beansprucht.

Durch wiederholtes Überimpfen einzelner möglichst isolierter Fäden unter stetiger mikroskopischer Kontrolle gelang es so, die Bakterien allmählich zurückzudrängen, sodaß nur noch ab und zu ganz wenig Bakterien bei der Überimpfung auf Agar mit organischer Stickstoffquelle auftraten. Als solcher wurde hauptsächlich Heydenagar verwendet. Dieser, der sich für Algen sehr bewährte, war nach dem für Wasserbakterien empfohlenen Rezepte hergestellt, d. h. er erhielt keine Zusätze als 0,2—0,8% Heydennährstoff, der mit 1,5—2% Agar-Agar in destilliertem Wasser im Autoklav gekocht wurde. Die Mischung wurde durch einen Pfropf von entfetteter Watte gegossen und dann durch Faltenfilter geklärt.

Bald hatte ich die Freude, in den Petrischalen mit Heydenagar bakterienfreie Fäden der erst in Angriff genommenen Oscillarienart sich ausbreiten zu sehen. Die Anwesenheit von Spaltpilzen verriet sich ja jetzt sofort durch deren üppiges Wachstum. Von den Heydenplatten wurde in Schrägröhrchen mit dem gleichen Agar geimpft, dann auch in Pepton-, Bouillon- usw. Nährlösungen. Die Kulturen blieben rein. So war also das Ziel erreicht, freilich auf einem umständlichen Wege: Rohkultur, Gipsblöcke, Salpeteragar, Kieselgallerte und Heydenagar, also fünf Stufen. Ich überzeugte mich später, daß es möglich ist, den Plattenguß mit Salpeteragar zu umgehen, doch ist gerade dieser zur Isolierung und Auffindung der einzelnen Arten sehr angenehm. Die Gipsblöcke sind natürlich nicht notwendig, wenn man direkt auf Kieselgallerte impft. Es blieben dann nur drei Stufen: Rohkultur, Kieselgel, Heydenagar. Letzterer läßt sich durch Agarmischungen mit anderen organischen Nährstoffen ersetzen, wie wir noch sehen werden; doch kaum mit Vorteil.

Merkwürdig mag es wohl erscheinen, daß trotz der Benutzung der Kieselgallerte wirkliche Reinkulturen erst auf Heydenagar erzielt wurden. Die Ursache dafür liegt darin, daß zwar auf dem anorganischen Gel alle äußerlich anhaftenden Bakterien abgestreift wurden, einzelne in der Gallerthülle sitzende aber nicht erkannt werden konnten. Die Weiterkulturen auf Heydenagar erlaubte dann die Auffindung und Auslese der zufällig bakterienfreien Fäden. (Vgl. Anhang S. 89.)

Ich bin mir darüber klar, daß dieser etwas komplizierte Gang der angewandten Methode keine bequeme Handhabe für spätere Reinzüchtungen bietet, wie sie etwa das bekannte Rezept zur Gewinnung

von Azotobakterreinkulturen aus Erde liefert. Das liegt zum Teil an den „historischen" Zufällen einer solchen Arbeit, zum Teil an der Schwierigkeit der Aufgabe, die, wie ich von verschiedenen Seiten hörte, nicht nur O. Richter mißlungen ist. Die Blaualgen bieten eben gerade wegen der geringen Spezifität ihrer Ernährung wenig Handhaben für die Trennung von anderen Organismen. Als die Reinzüchtung einiger Arten geglückt war, hatte ich mit deren Ernährungsphysiologie soviel zu tun, daß eine systematische Durchprüfung weiterer Kulturmöglichkeiten zum bloßen Zwecke der vereinfachten Reinzüchtung nicht in Angriff genommen werden konnte. Doch glaube ich, in der Kombination von Agarplattenguß, Kieselgelkultur und Heydenagarnachprüfung den vorläufig besten Weg gezeigt zu haben. Daß er nicht bei allen Arten zum Ziele führt, habe ich schon zu meinem Leidwesen erfahren.

In Agarplatten mit Nitrat oder Ammonsalzen (siehe weiter unten S. 70 ff.) wachsen wohl so ziemlich alle Arten, wenn auch mit recht verschiedener Geschwindigkeit[1]). Doch ist die Kieselgallerte nur für die beweglichen Formen bequem brauchbar[2]). Auch wachsen auf dem Heydenagar nicht alle Arten gut, obgleich auf diesem noch besser als auf anderen Agarmischungen mit organischen Stoffen, die vielfach stark schädlich sind. Zwar ist das Wachstum in organischen Substanzen an sich nicht Bedingung für die Reinkultur, doch erleichtert es die Erkennung der bakterienfreien Fäden sehr. Deshalb begnügte ich mich zunächst mit den auf die beschriebene Weise von Bakterien trennbaren Arten, wobei freilich vielleicht eine ökologische Gruppe bevorzugt worden ist. Daher dürfen auch Schlüsse auf die Lebensbedingungen der nicht weiter verfolgten Arten nur mit Vorsicht gezogen werden. Soweit ohne Reinkultur eine Prüfung der Ernährungsverhältnisse möglich ist, soll das an einer größeren Zahl von Arten von anderer Seite geschehen.

III. Die reinkultivierten Arten.

Wenn auch für die rein physiologischen Gesichtspunkte dieser Arbeit die Identifizierung der zu den Versuchen herangezogenen Cyanophyceen-Arten nicht von einschneidender Bedeutung ist, so mußte

[1]) Die sich langsam vermehrenden Arten wurden schon auf dieser Stufe von den weiteren Versuchen ausgeschlossen.

[2]) Die unbeweglichen Formen lassen sich gut impfen, indem man eine Aufschwemmung von ihnen in sterilem Wasser auf die Oberfläche der Gallerte schüttet und nach einiger Zeit die überschüssige Flüssigkeit vorsichtig abgießt. Reinkulturversuche mit dieser letzteren Methode sollen noch unternommen werden.

mir doch daran liegen, wenigstens die systematische Gruppe zu kennzeichnen, der sie angehören. Wie bekannt, ist die Bestimmung von Blaualgen schwierig, und zwar wegen deren Formenreichtum und der, im Gegensatz etwa zu den gleichfalls so vielgestaltigen Diatomeen und Desmidiaceen, geringen Anzahl der morphologischen Merkmale. Man kann sie, wie mir scheint, in der Beziehung am ehesten mit den Spaltpilzen vergleichen. Es dürften in den Bestimmungsbüchern überhaupt nur die häufigeren oder irgendwie charakteristischen Formen zu finden sein. Daneben gibt es eine Menge untereinander sehr ähnlicher und noch dazu großenteils sehr kleiner Arten, die sich nicht zu größeren Lagern vereinen und deshalb dem Sammler meist entgehen. Das ist natürlich kein Vorwurf gegen die so sorgfältigen Arbeiten verschiedener Autoren. Man denke nur, wie es um die Bakteriensystematik stünde, wenn wir noch heute auf bloße Beobachtung an mehr oder weniger natürlichen Standorten angewiesen wären.

Daraus ergibt sich aber auch gleich die Forderung, daß die einzelnen Arten der Spaltalgen an mindestens speziesreinen Kulturen zu verfolgen sind, um die Konstanz der systematisch benutzten Merkmale zu prüfen und neue Unterscheidungsmittel ausfindig zu machen. Voraussichtlich werden dann die Arten weiter zerlegt werden müssen. Es wird aber bei solchem Verfahren, wie ich das in der ersten Mitteilung anführte, auch die Schar der einzeln lebenden oder sehr kleinen, besonders auch der einzelligen Arten zu ihrem Rechte kommen, die auf Gallertsubstraten charakteristische Kolonien bilden. Auf ähnliche Kennzeichen hat man auch bisher schon achten müssen. Man zieht die Gestalt und Farbe der natürlichen Blaualgenlager zur Bestimmung heran. Diese Merkmale sind aber bei der Verschiedenheit der Lebensbedingungen recht schwankend und unzuverlässig. Durch Kultur unter bekannten, leicht herstellbaren Bedingungen ließe sich diese Schwierigkeit beheben.

In der vorliegenden Arbeit, in der es auf die physiologischen Eigenschaften der Arten ankam, mußte schließlich auch damit gerechnet werden, daß von morphologisch scheinbar völlig einheitlichen „Arten" physiologische Rassen bestehen, daß also eine Nachprüfung am scheinbar gleichen Material andere Ergebnisse zeitigt. So ist es ja z. B. mit dem von mir kultivierten Stamme von *Euglena gracilis* gegangen, der sich anders verhielt als es Zumstein angegeben hatte. (Vgl. 2. Mitteilung, diese Beiträge 1912 S. 35 ff.) Ich möchte deshalb betonen, daß meine Ergebnisse sich nur auf die kultivierten Formen beziehen, und ich eine Garantie für die Übereinstimmung mit den Originalarten oder späteren Isolierungen nicht übernehmen kann.

Was nun meine Bestimmungsversuche betrifft, so dienten dazu neben der neuesten Bearbeitung der Cyanophyceen durch Lemmer-

mann[1]) die ausführlicheren Artenbeschreibungen von Gomont[2]). Herbarmaterial stand mir leider nicht zur Verfügung.

1. Die in den Protokollen als *Oscillaria* IV. geführte Art ist ziemlich feinfädig, von kräftig blaugrüner Farbe. Die Dicke der Fäden beträgt 4,5—5 μ. Die einzelnen Zellen sind $^1/_3$—$^1/_2$ so lang als breit. Das Ende der Fäden ist nur schwach verjüngt, die Spitzenzelle rundlich. An den Querwänden, an denen die Fäden schwach eingeschnürt sind, erkennt man deutlich zwei Reihen von Körnchen. Darnach stimmt die Diagnose Lemmermanns für *Oscillaria tenuis* Ag., für die dieser Autor eine Dicke von 4—10 μ angibt. Bei mir sind die Fäden viel einheitlicher in der Dicke. Auch die Beschreibung und die Abbildungen bei Gomont (a. a. O. Tafel VII, Fig. 2 und 3) passen gut auf die von mir kultivierte Art.

2. Die zweite, provisorisch als *Osc.* X gekennzeichnete, in Reinkultur gewonnene Art ist etwas dicker, die einzelnen Fäden unter dem Mikroskop von mattgraugrüner Farbe, während größere Lager tiefschwarzgrün aussehen. Die Fäden sind 5,5—6 μ dick, die Zellen etwa halb so lang wie breit. Die Trichome sind zugespitzt. Die Endzelle ist wie die spitze Hälfte eines Eies gestaltet und mit dickeren Wänden versehen. Die Querwände sind nicht granuliert, auch sind keine Einschnürungen zu erkennen. Der Mangel der Granulation ist der einzige Unterschied gegenüber Lemmermanns Diagnose für *Oscillaria brevis* Kütz. (a. a. O. S. 115), für die er eine Breite der Zellen von 4—6,5 μ, eine Länge von 1,5—3 μ angibt. Doch dürfte auch er nicht ausschlaggebend sein, da Gomont (a. a. O. S. 203) das Fehlen der Körnchen betont. Auch sind dessen Angaben über die ziemlich plötzliche Zuschärfung der Spitze und den Mangel einer Kappe an der Endzelle so bezeichnend für meine Form, daß ich bei *Oscillaria brevis* Kütz. bleiben möchte.

3. Die Identifizierung der *Nostoc*-Arten ist schwieriger als die der Oscillarien. Da der Habitus des Thallus als wichtiges Merkmal verwendet wird, war eine regelrechte Benutzung der Bestimmungstabelle nicht möglich[3]). Doch dürfte, den sonstigen Kennzeichen nach, meine Art dem *Nostoc cuticulare* (Bréb.) Bornet et Flahault entsprechen. Masse und Aussehen stimmen recht gut. Die Farbe ist ein schönes, helles Blaugrün. Auch Standort und Aussehen der Lager stimmen mit den Angaben überein. Doch will ich vorsichtshalber die Art nicht mit dem genannten Speziesnamen bezeichnen.

---

[1]) E. Lemmermann, Kryptogamenflora der Mark Brandenburg. Algen I. Leipzig 1910.

[2]) M. Gomont, Monographie des Oscillariées, Ann. des sc. nat. sér. VII. Bot. T. XV.

[3]) Vgl. Lemmermann a. a. O. S. 161.

IV. Entwickelung und Habitus der Kulturen.

Bevor ich dazu übergehe, die wichtigsten Ergebnisse dieser Arbeit, nämlich die Kulturerfahrungen mit Agarmischungen und mit Nährlösungen bekannter Zusammensetzung darzulegen, will ich einiges über den Habitus der Kulturen und seine Veränderungen im Laufe der Zeit vorausschicken.

Die große Zahl der auf ihren Nährwert zu prüfenden Stoffe, machte eine quantitative Bearbeitung des Erntematerials unmöglich. Denn dazu hätten viel größere Flüssigkeitsmengen gehört, die die verfügbaren Mittel in bezug auf Chemikalien, Kolben und Raum nicht zuließen. Aus diesem Grunde habe ich mich darauf beschränkt, die an den Kulturen vom Tage der Impfung an bemerkbaren Veränderungen, soweit sie der Beobachtung zugänglich waren, in Pausen aufzuzeichnen. Aus den Protokollen soll im Anhang das Wesentliche mitgeteilt werden, wobei zugleich die Wiedergabe verschiedener Erscheinungen möglich wird, die quantitativ nicht faßbar wären.

Hierher gehört vor allem die Tatsache, daß manchmal Kulturen, die nach der Impfung zuerst keine oder nur schwach merkliche Entwickelung zeigten, sich später erholten und dann noch recht gut wurden. Das Gegenstück ist der noch häufigere Fall, daß eine Nährlösung im Anfang stark das Wachstum fördert, auf die Dauer aber nicht günstig ist. Folgt auf anfängliche Vermehrung ein Stillstand, so ist dieser stets endgültig, falls nicht neue Nahrungsstoffe zugeführt werden. Meist war er bei den kultivierten Arten äußerlich kenntlich an der Verfärbung der Algenmasse ins gelbliche bis rötliche, wie das Magnus und Schindler[1]) vor kurzem geschildert haben. Der *Nostoc* verhielt sich in der Beziehung genau wie die Oscillarien. Die Verfärbung ist im allgemeinen um so intensiver, je üppiger vorher das Wachstum war. Daher kommt es, daß eine anfangs sehr gut aussehende Kultur oft später schon einen kränklichen Anblick gewährt, wenn eine langsamer herangewachsene noch üppig grünt. Außer dem allgemein beobachteten Einfluß des Nahrungsmangels fördern auch gewisse organische Stoffe und helles Licht das Gelbwerden.

Neben der Verschiedenheit der Färbung ist auch der sonstige Habitus der Kulturen bei ein und derselben Art je nach der Zusammensetzung der Nährlösung verschieden. Bald sind die Fäden über den verfügbaren Raum ausgebreitet, bald drängen sie sich zu Klumpen zusammen oder sammeln sich phototaktisch in gewissen Be-

---

[1]) W. Magnus und B. Schindler, Über den Einfluß der Nährsalze auf die Färbung der Oscillarien. Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 30, 1912.

zirken des Kulturgefäßes. Deshalb ist die relative Schätzung der jeweils gewachsenen Algenmasse oft schwierig. Es blieb somit nichts anderes übrig, als ihr Aussehen kurz zu schildern, wobei gewisse oft wiederkehrende Habitusbezeichnungen verwendet wurden. Diese sollen im folgenden erklärt werden.

Wird eine kleine Menge Material von fädigen Blaualgen aus einer Flüssigkeitskultur entnommen, so wird es durch die Oberflächenspannung des Wassers zusammengeballt, weil die Fäden zu weich sind, um das Abrundungsbestreben des Tropfens zu überwinden. Wird ein solches „Impfklümpchen" in Wasser übertragen, so gleichen sich die gewaltsamen Krümmungen der Fäden elastisch aus. Auch heften sich die Fäden durch ihre Gallertscheiden an der Glaswand fest[1]). Gleichzeitig beginnen die bekannten schwingenden Bewegungen der Spitzen, nach denen die Oscillarien ihren Namen haben. Dadurch kommt allmählich die strahlige Anordnung der freien Enden zustande, während die Fäden in der Mitte zunächst noch verschlungen bleiben. Mein *Nostoc* verhielt sich auch hierin wie die Oscillarien, nur daß die Bewegungen und später auch die Vermehrung langsamer vor sich gingen. Der Zustand, in dem die Fäden in der Mitte noch vereinigt, außen aber radiär angeordnet sind, wird im folgenden als „Strahlung" [2]) bezeichnet. Er kommt sowohl auf gallertartigem Untergrunde wie auch in Flüssigkeit unter günstigen Umständen nach kurzer Zeit zustande. Nach weniger als einer Stunde kann er schon mit bloßem Auge gut kenntlich sein.

Ist die Nährlösung irgendwie schädlich, z. B. durch saure Reaktion oder Schwermetallspuren, so unterbleibt die Festheftung am Glase und die Strahlung ganz, das Impfklümpchen bleibt zusammengeballt. Das letztere kann nun aber auch dann vorkommen, wenn die Nährlösung eine Vermehrung erlaubt, so daß Ausbreitung und Gedeihen nicht immer parallel gehen. Die Oscillarienmasse wächst dann zu einem dicken kugeligen Gebilde heran, das frei am Boden liegt, und aus dem nur die äußersten Fadenenden herausragen. Ich bezeichne das als „Klumpen". Diese Erscheinung trat besonders in peptonhaltigen Nährlösungen auf. Sollte die Erscheinung vielleicht mit der Verminderung der Oberflächenspannung durch das Pepton zusammenhängen? Ein Vergleich der Erntemenge mit der anderer Kulturen, in denen die Oscillarien ausgebreitet waren, war unter diesen Umständen kaum möglich.

---

[1]) Vgl. C. Correns, Über die Membran u. die Bewegung der Oscillarien Ber. d. deutsch. Bot. Gesellsch. Bd. XV, 1897, S. 139.

[2]) Vgl. Tafel 2, Fig. I, 6.

Meist folgt nun aber auf die Strahlung das weitere Auseinanderstreben der Fäden unter Lockerung des Knäuels und Fortstreben von der Mitte. Bei dieser „Ausbreitung" ist zweifellos eine chemotaktische Reizbarkeit im Spiele, auf Grund deren die Fäden sich gegenseitig fliehen. Sie bleiben dementsprechend bei der Ausbreitung noch eine Zeitlang annähernd radiär angeordnet (vgl. Tafel 2, Fig. I, 7), wobei aber, besonders auf gallertigem Untergrunde, durch den Reibungswiderstand schon vielfach Krümmungen und Schleifen entstehen. Gleichzeitig macht sich unter normalen Umständen die Vermehrung durch interkalares Wachstum der Fäden bemerkbar. Die Ausbreitung kann aber auch bei Nahrungsmangel erfolgen, der ein merkliches Wachstum unmöglich macht, also etwa in reinem Wasser oder auf nährsalzfreier Kieselgallerte, sowie im Dunkeln. Das Fehlen von Nahrungsstoffen verhindert demnach nicht, wie die Gegenwart schädlicher Stoffe, das Kriechen.

Oft breitet sich das Impfmaterial schon am ersten Tage völlig aus, sodaß die Fäden etwa in gleichem Abstande über die verfügbaren Oberflächen des Glases in der Flüssigkeit oder des Agars verteilt sind. Erst später beginnt dann ein Dichterwerden des so entstandenen Faden-„Netzes" durch Vermehrung der Algen. Nur selten aber erhält sich die gleichmäßige Anordnung. Abgesehen davon, daß zuweilen ein Teil des Impfklümpchens zusammengeballt bleibt, so daß nur einzelne Fäden herauskriechen und den Grundstock zu einem Netz ergeben (Vgl. Tafel 2, Abb. III, 1), finden wir andere Störungen der regelmäßigen Verteilung. Ihre Ursachen möchte ich wieder in der Reizbarkeit der Fadencyanophyceen sehen.

Ganz klar liegt das bei der Phototaxis, die entgegen der die Ausbreitung fördernden negativen Chemotaxis, ein Zusammendrängen an günstig beleuchteten Stellen verursacht. In Flüssigkeitskulturen finden wir demnach die Oscillarien nach einiger Zeit meist an der Fensterseite des Meniscus angesammelt, wobei sie vielfach über den Flüssigkeitsspiegel emporkriechen, die Nährlösung kapillar nachsaugend. Auf festweichem Substrat macht sich ein derartiger Einfluß des Lichtes nicht bemerkbar. Der *Nostoc* zeigt eine besonders ausgesprochene Lichtreizbarkeit. Seine Fäden schieben sich im Anfange einer Kultur in der Richtung des Lichteinfalles am Boden des Gefäßes hin, wie das in Tafel 2, Fig. III, 2, zu sehen ist. Später sind die *Nostoc*-Trichome meist genau parallel zu einander und nahezu gradlinig an der dem Fenster zugekehrten Glaswand angeordnet. In anderen Fällen sammeln sie sich dagegen wie die Oscillarien an der hellsten Stelle an. Welche Ursachen dieses verschiedene Verhalten in verschiedenen Nährlösungen hat, das läßt sich vorläufig nicht sagen. Man kann nur den engen Zusammenhang zwischen einem bestimmten

Habitus und den betreffenden Kulturbedingungen betonen. Der *Nostoc* zeigt seine Phototaxis auch auf Agar in Petrischalen und, den komplizierten Lichtberechnungsverhältnissen entsprechend, weniger klar in Reagenzgläsern.

Zu der Chemo- und Phototaxis kommt als bestimmender Faktor bei der Anordnung der Fäden wohl noch eine Stereotaxis, d. h. das Bestreben, sich der Oberfläche fester Körper anzulegen. Sicher ist das Vorhandensein dieser Reizbarkeit freilich nicht. Beim Wachstum auf Erde, auf Agar, Kieselgallerte usf. könnte schon die Oberflächenspannung des Wassers genügen, ein Erheben in die Atmosphäre unmöglich zu machen. In Flüssigkeitskulturen fällt dieser Faktor fort, und doch bleiben die Fäden der Oberfläche des Glases zunächst angeschmiegt. Darin möchte ich den Einfluß der Stereotaxis sehen. Doch kann auch die Konsistenz des abgeschiedenen Schleimes, also seine Kohäsion und die Adhäsion am Glase, zur Erklärung ausreichen. Sieht man freilich das so verschiedene Verhalten unter differenten Bedingungen, so ist man eher geneigt, es einem Wechsel in der Reizbarkeit, resp. im Vorherrschen einer bestimmten Sensibilität zuzuschreiben, denn die physikalischen Bedingungen können, etwa in Nährsalzlösungen, kaum derartig verschieden sein. Man vgl. dazu die Fig. II und III auf Tafel 2.

Derselben Ursache, die für das Kriechen an festen Körpern verantwortlich zu machen ist, dürfte jedenfalls auch der Umstand zuzurechnen sein, daß die anfangs durch negative Chemotaxis auseinandergetriebenen Fäden sich später meist zu „Strängen“ aneinanderhängen. Der Anfang zu solchen Aggregaten läßt sich mikroskopisch verfolgen. Er besteht darin, daß die Fäden nicht auf unbesiedeltem Boden kriechen, sondern an ihresgleichen entlang gleiten. Da man auf Agar und Kieselgallerte vielfach sieht, daß die früher schon „begangenen Straßen“ auch dann vorgezogen werden, wenn der erste Faden schon weiter gekrochen ist, darf man wohl annehmen, daß die oft sichtbare oder durch Saffraninfärbung sichtbar zu machende Schleimspur die Ursache für dieses Nachkriechen ist. Ob aber die Veränderung der Oberflächenbeschaffenheit rein physikalisch oder durch eine spezifische Reizbarkeit wirkt, läßt sich bei dem Mangel einschlägiger Versuche und der Rätselhaftigkeit des Bewegungsmechanismus nicht entscheiden.

Mit bloßem Auge erkennt man die Wirkungen des geschilderten Haftens der Fäden aneinander eben an der „Strangbildung“, die zuweilen soweit fortschreitet, daß der größere Teil der Algenmasse zu wurstartigen Gebilden geballt wird. Von den oben geschilderten Klumpen oder Kugeln unterscheiden sie sich durch ihre unregelmäßige Gestalt und das Haften an der Glaswand. Als Beispiel diene

Abb. II, 2, und für *Nostoc* Abb. III, 3 im Gegensatz zu 2, wo die Fäden meist einzeln liegen.

In guten Kulturen wird das dem Boden anliegende Netz mit oder ohne teilweise Strangbildung immer dichter, bis es bei günstiger Beleuchtung schließlich durch reichlich ausgeschiedene Sauerstoffblasen emporgehoben wird. Es schwebt dann, teilweise noch festgeheftet, als zarter „Schleier", der sich aber zuweilen noch aus unbekannten Gründen zusammenballt, in der Flüssigkeit.

Neben den der Glaswand angeschmiegten Fäden sieht man schließlich in üppigen Kulturen auch welche, die an dem Oberflächenhäutchen des Flüssigkeitsspiegels ihren Halt finden. Sie bilden in späteren Stadien der Kultur eine mehr oder weniger dichte „Haut". Eine solche zeigt sehr schön den Zusammenhang der Fadenaggregate, der gar nicht unbeträchtlich ist. Darauf gestreute lösliche Substanzen bleiben lange Zeit trocken, Tropfen gefärbter Lösungen vereinigen sich nicht mit der Kulturflüssigkeit, selbst wenn die Haut scheinbar so locker gewebt ist, daß große Maschen in ihr frei bleiben. Es mag das durch ausgeschiedenen Schleim und durch die Oberflächenspannung des Tropfens bedingt sein.

Die Haut ist der Regel nach am Rande des Meniscus dichter, sie bildet einen „Rand", der auch dann vorhanden sein kann, wenn die Mitte der Wasseroberfläche unbesiedelt ist. Er bildet auch den Ausgangspunkt für die Haut. Ein Beispiel für eine ältere Kultur mit losgelöster Haut mit Rand zeigt Fig. II, 1. Es ist der Typus einer normalen, gut gewachsenen Oscillarienkultur.

Schließlich noch wenige ergänzende Worte über das Verhalten auf gallertigen Substraten, wie Agar, Gelatine und Kieselgallerte. Auf diesen breiten sich die Oscillarien usw. ganz ähnlich aus, wie in Flüssigkeiten, wobei sie sich auf dem Agar am leichtesten entlang schieben. Der Widerstand des klebrigen Untergrundes bewirkt die Bildung zahlreicher Schleifen, die schließlich zu vollkommenen, kreisrunden Spiralwirbeln werden können. Neben der Besiedelung des eigentlichen Nährbodens findet, besonders bei Verwendung von Agar, auch ein Wachstum auf den Innenwänden der Glasgefäße statt, wie es Abb. I, 1, 2 zeigt. Manchmal sind hier sogar üppigere Algenmassen zu finden als auf dem Agar selbst. Gleichzeitig kriechen die Oscillarien auch zwischen Glas und Agarmasse hinein, da deren Zusammenhang stets nur locker ist. Die geringe Viscosität des Agars und die Ausscheidung des sogenannten Kondenswassers mögen das bewirken. Ist der sonst verfügbare Raum schon besiedelt, so findet an dieser Stelle nach schwacher Volumverminderung des Agarklotzes durch Wasserverlust oft noch ein neues Aufblühen der Oscillarienvegetation statt, wie es Abb. I, 8 zeigt, auf der ein Agarröhrchen von

der Rückseite zu sehen ist. In Kulturen mit Kieselgallerte und Gelatine bleiben die Glaswände fast ganz frei von Algen. Weitere Beobachtungen dieser Art sind weiter unten auf S. 68 mitgeteilt.

V. Kultur auf Nährgallerte.

Wie schon aus den früheren Angaben verschiedener Forscher und aus dem oben Gesagten hervorgeht, sind Agarmischungen mit Nährsalzen für die Kultur von Blaualgen sehr geeignet. Das gilt nicht nur für Oscillarien, sondern auch für zwei von mir herangezogene *Nostoc*arten, für eine *Schizothrix* und für einige einzellige Cyanophyceen. Für das Wachstum bot gewässerter Agar bei keiner Art einen Vorteil gegenüber dem ungewässerten, abgesehen von der etwaigen Störung durch fremde Organismen, wie Pilze, Bakterien, Amoeben und Infusorien. Umgekehrt schien manchmal die Vermehrung in ungewässertem Agar üppiger, wie das bei *Euglena gracilis* in viel höherem Maße hervortrat. Ein Zusatz von Erdabkochung, der bei anorganischen Lösungen so sehr förderlich sein kann, hatte kaum irgendwo erheblichen Einfluß. Auch die Konsistenz des Agars war zwischen 1 und 2% gleichgültig. Überall erwies sich ein Agar, der 0,1% KNO_3, 0,02% $MgSO_4$ und 0,02% K_2HPO_4 enthielt, als geeignet.

Neben dieser Mischung wurden noch einige andere Nährsalzzusätze zum Agar versucht. Sehr günstig war auch hier sekundäres Ammoniumphosphat, desgleichen neutrales Ammoniumsulfat. Wurde dem Agar anstatt des sekundären Kaliumphosphates primäres in der Konzentration von 0,2% zugesetzt, so war das Wachstum schlechter, manchmal blieb es auch ganz aus.

Ganz ähnlich war der Befund in Kulturen mit Kieselsäuregallerte; nur war hier bei Verwendung von Kalisalpeter der Zusatz von Erdeauszug öfters förderlicher als vergleichsweise bei Agar. Eine Form, nämlich *Schizothrix* spec., blieb auf Kieselgallerte mit Salpeternährlösung im Wachstum ganz erheblich zurück, wenn der Erdeauszug fortgelassen wurde, sodaß die kreisförmig sich ausdehnende Kolonie hier nicht wie sonst immer schließlich zur gänzlichen Bedeckung der Kulturschale kam.

Gelatine enthält an sich soviel aufschließbare Stoffe, daß sie schon mehr zu den Agarkulturen mit organischen Stoffen überleitet. Es wurde eine, ohne weitere Zusätze mit Ammoniak vorsichtig neutralisierte 10prozentige Gelatine verwendet. *Oscillaria tenuis* und *brevis* breiteten sich darauf gut aus und wuchsen, obgleich nicht sehr schnell, zu schönen Kulturen heran. Eine Verflüssigung der Gelatine trat in Reinkulturen nie ein, auch dann nicht, wenn eine größere Menge

Material auf die Oberfläche des schräg erstarrten Nährbodens gebracht wurde. Dagegen wurde unter solchen Umständen eine andere Erscheinung bemerkbar. Von der beim Impfen zusammengeballten Oscillarienmasse strebte eine große Menge Fäden radiär nach allen Seiten, ähnlich wie bei der Ausbreitung in Wasser. Sie drangen dabei gradlinig in die Gelatine ein und umgaben den Impfklumpen „wie die Strahlen die Sonne“[1]). Daneben schoben sich natürlich auch Fäden auf der Oberfläche entlang.

Bei kleiner Impfmenge trat das Eindringen in die Gelatine erst nach reichlichem Wachstum ein, immer aber stärker als bei Agar, wo die Oscillarien hauptsächlich die Oberfläche und die Grenzschicht gegen das Glas besiedelten oder gar bei Kieselgallerte, wo ein Eindringen kaum beobachtet wurde.

Die Ausbreitung überhaupt und das Einbohren in die Gelatine muß wohl einer negativ chemotaktischen Reizbarkeit zugeschrieben werden. Daß eine solche besteht, wurde deutlich, wenn in die Nähe einer sich ausbreitenden Oscillarienmasse auf Agar oder Kieselgallerte ein saurer Stoff, z. B. das schwer lösliche saure weinsaure Kalium (Weinstein) gebracht wurde. Alle nach der betreffenden Seite herausstrebenden Fäden wurden dann zur Umkehr gezwungen und die seitlichen im Bogen abgelenkt. Auch geschah die Besiedelung der Randpartien einer Petrischale, nach reichlicher Entwickelung in der Mitte, zuweilen deutlich in geradlinigen Strahlen. Am deutlichsten war das bei *Oscillaria brevis* auf Asparaginagar. Endlich konnten Bakterienkolonien eine anziehende oder abstoßende Kraft ausüben. Die positive Chemotaxis scheint aber bei Oscillarien nicht sehr ausgebildet zu sein, da Versuche mit einigen Nährstoffen auf Agar und Kieselgallerte erfolglos blieben.

Wir kämen nun zu den Versuchen auf Agar mit organischen Zusätzen in Schrägröhrchen. Diese wurden, wie oben gemeldet, teilweise zur Erprobung, teilweise zur Gewinnung der Reinkultur angestellt. Bald nach Erreichung dieses Zieles aber wurden sie auch auf andere Mischungen als die zuerst verwendeten, und zwar einige gebräuchliche Bakteriennährböden, ausgedehnt, um einen ersten Überblick über die Wirkung organischer Stoffe zu bekommen, bevor die systematischen Versuche mit organischen Lösungen in Angriff genommen wurden.

Von den Nähragarmischungen, die verwendet wurden, bewährten sich nur diejenigen mit geringen Mengen organischer Stoffe. Der

[1]) Vgl. Tafel 2, Abb. I, 5, unten.

oben oft genannte Heyden-Agar war sehr günstig. Er wurde hergestellt[1]) durch Kochen von 0,8% Nährstoff Heyden mit 2% Agar-Agar im Autoclav und Filtrieren. Dabei löst sich nur ein Teil der Albumose. Durch Verdünnen mit bloßem Wasseragar wurde ein besonders für den *Nostoc* noch besseres Substrat erzielt. Von Asparagin wurde 0,1% oder 0,025% nebst den nötigen Nährsalzen, von Pepton 0,5 oder 0,2% und von neutralisiertem Fleischextrakt 0,2% verwendet. Ferner kamen noch in Gebrauch: Agar mit Erbsenwasser, Mannitagar [wie für *Azotobakter*, also 2% Mannit, 0,1% K_2HPO_4 ohne eigens zugesetzten Stickstoff], Spirillenagar nach Arthur Meyer, d. h. Fleischwasser-Peptonagar und ein Agar mit Maiskörner-Faulflüssigkeit[2]).

Es soll nun die Wirkung dieser Substrate auf die verschiedenen Arten geschildert werden, und zwar an ausgewählten Beispielen, denen die übrigen entsprachen, wo nicht anders vermerkt. Überall schräg erstarrter Agar in Reagenzgläschen.

Oscillaria I, eine tief graugrüne Art, der *Osc. brevis* ähnelnd, nicht in völliger Reinkultur gewonnen, Bakterien aber in der Stammkultur in geringer Menge. Die Versuche werden absichtlich angeführt, als Beispiele für die Art des Wachstums bei Gegenwart von Bakterien.

Asparaginagar: Erst viel Bakterien, dann gute Ausbreitung und Wachstum. Nach vier Wochen sehr üppig, tief graugrün.

Heydenagar: Bakterien um die Impfstelle, aber gute Ausbreitung und Wachstum. Nach zwölf Tagen schon recht üppig, die ganze Oberfläche bedeckend.

Peptonagar: Ähnlich.

Erbsenagar: Gute Ausbreitung, aber Wachstum durch Bakterien gestört.

Fleischextraktagar: Wie Asparagin- und Heydenagar.

Mannitagar: Bakterien reichlich, Oscillarien wachsen schlecht, werden gelb (Stickstoffmangel).

Oscillaria tenuis in Reinkultur.

I. Am 25. Juni 1912

geimpft aus Heydenagarröhrchen vom 28. Mai in:

1. Peptonagar 0,5 %.
2. Fleischwasserpeptonagar.
3. Asparaginagar 0,025 %.
4. Mannitagar.
5. Heydenagar 0,8 %.

Ergebnis am 27. Juni:

1. u. 2. nicht, alle anderen schön strahlend.

---

[1]) Nach Arthur Meyer, Praktikum der bot. Bakterienkunde. Jena 1903.

[2]) E. G. Pringsheim, Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen. 2. Mitt. *Euglena gracilis.* Diese Beitr. Bd. XII, S. 13.

2. Juli:

1. u. 2. nicht gewachsen. 3. Weit ausgebreitet, auf dem Agar Fäden teilweise Wirbel bildend. Fäden auch am Glase. 4. u. 5. Fäden ausgebreitet, bei 5. auch am Glase.

17. Juli:

1. u. 2. Wohl tot? Frisch beimpft mit größerer Menge Material. 3. Entsprechend weiter entwickelt. 4. Ähnlich, aber wenig Wirbel. 5. Sehr üppig, über und über blaugrün.

22. Juli:

1. u. 2. zeigen keine Ausbreitung der noch lebenden Oscillarien. 3. Hübsche Kultur, frisch grün. 4. Fäden über die ganze Fläche, aber ganz ockerfarben (Stickstoffmangel). 5. Sehr üppig, schön blaugrün.

II. Am 22. Juli 1912

aus Heydenagarröhrchen vom 28. Mai in:

1. Peptonagar 0,2 %.
2. Erbsenwasseragar.
3. Fleischextraktagar 0,2 % neutralisiert.
4. Gewässerter Agar mit Ammonphosphat.
5. Agar mit Maisfaulflüssigkeit.

Ergebnis am 1. August:

1. Gut. 2. Tot, frisch beimpft. 3. u. 4. Weniger als 1, aber gewachsen. 5. Gelblich, schlecht.

12. August:

1. Grasgrün, recht gut. 2. Wenig Oscillarien in den am Glase kondensierten Tröpfchen. 3. Etwas weniger als bei 1, aber mehr blaugrün. 4. Nicht sehr gut, gelblich. 5. Nicht sehr gut gewachsen, grasgrün.

6. September:

Auf Pepton- und Fleischextraktagar hell geworden, viele Zellen tot.

III. Am 29. Juli

aus der Mannitkultur vom 25. Juni, die ganz gut gewachsen ist, aber nur gelbe Fäden aufweist: 1. In dieselbe Mischung; 2. in Heydenagar geimpft.

31. Juli:

1. Schon grüner als in der Stammkultur. 2. Weniger grün als 1. Später wachsen beide ganz gut weiter, wobei: 1. anfangs die gute Farbe wiedererhält, aber schließlich doch wieder gelb wird, während 2. schön blaugrün wird.

IV. Auf Gelatine breitet sich *Oscillaria tenuis* gut aus. Von größeren Impfmassen aus oder nach reichlicher Entwickelung dringt sie tief in die Gelatine ein, im ersteren Falle etwa wie die Borsten einer Bürste, im letzteren mehr diffus. Die Fäden sind dann kurz und viel mehr verteilt als auf Agar, sodaß keine Wirbel und Stränge auftreten.

Alle diese Impfungen wurden mindestens einmal wiederholt.

Aus diesen Versuchen ist zu ersehen, daß Heyden- und Asparagin-

agar ein sehr gutes Wachstum bewirken, während Peptonagar bei 0,5% unbrauchbar ist, bei 0,2% zwar anfänglich gute Entwicklung erlaubt, schließlich aber die Oscillarien degenerieren läßt. Das letztere gilt auch für den Fleischextraktagar. Fleischwasserpeptonagar und Erbsenwasseragar enthalten offenbar gleichfalls zu viel organische Stoffe. Maisfaulagar bewirkt eine schnelle Verfärbung. Der ohne besondere Stickstoffquelle hergestellte Mannitagar erlaubt nicht wie bei *Azotobakter* reichliche Entwicklung. Zwar vermehren sich die Oscillarien anfangs, wohl auf Kosten der geringen Stickstoffmengen des Agars, bald aber nehmen sie die gelbe Farbe an, die für den Mangel an geeigneten N-Quellen bezeichnend ist[1]). Sie sind dann noch nicht tot, können sogar, in ein neues, gleiches Röhrchen gebracht, wieder ergrünen, werden aber bald wieder entfärbt.

Oscillaria brevis in Reinkultur.

1. Mannitagar. 29. Juli bis 23. August 1912. Wenig Entwickelung. Fäden hauptsächlich am Glase, gelblich. Am 6. September. Kaum Wachstum.

2. Heydenagar. 12. bis 23. August 1912. Gut ausgebreitet, ziemlich viel gewachsen, aber gelblich. Am 6. September. Gut, aber gelb.

3. Peptonagar 0,2 %. 12. bis 23. August 1912. Ähnlich, aber besser, dringen mehr in den Agar ein, auch mehr graugrün. Am 6. September. Gleichfalls gelb.

4. Gelatine 10 % mit NH_3 neutralisiert. 14. bis 23. August 1912. Gute Ausbreitung, bald auch senkrecht zur Oberfläche eindringend. Am 4. September schön grasgrün und gut, wenn auch nicht sehr üppig gewachsen.

5. Asparaginagar. 14. bis 23. August 1912. Gut ausgebreitet und gewachsen, aber gelbgrün. Am 6. September nicht sehr viel gewachsen, gelblich.

6. Fleischextraktagar 0,2 % neutral. 20. bis 23. August 1912. Wenig ausgebreitet. Am 6. September schlechte Ausbreitung, Wachstum?

Daraus ist für diese Art die geringe Widerstandsfähigkeit gegen organische Stoffe im Agar zu ersehen. Sie wächst zwar in manchen Mischungen anfangs ganz gut, nimmt aber mehr oder weniger schnell eine gelbliche Farbe an und hält dann mit der Vermehrung ein. Im Gegensatz dazu ist hier Gelatine, die ohne weitere Zusätze mit Ammoniak neutralisiert wurde, leidlich für das Wachstum geeignet. Jedenfalls bekommen die Oscillarien hierin schöne Farbe, auch wenn sie aus einer ganz gelben Kultur geimpft worden sind. Dieses Ergrünen ist schon nach 1—2 Tagen deutlich. Ebenso, wenn gelbe Oscillarienmassen auf Kalisalpeteragar übertragen werden. Wie hier gleich betont sei, ist auffallenderweise die *Oscillaria brevis* in Lösungen nicht empfindlicher gegen organische Stoffe als *Oscillaria tenuis*.

---

[1]) Vgl. Magnus und Schindler, Über den Einfluß der Nährsalze auf die Färbung der Oscillarien. Ber. d. deutsch. bot. Ges. 1912. S. 314 ff.

Nostoc spec. in Reinkultur.

Diese Form ist besonders auf festen Substraten, aber, wie wir später sehen werden, auch in Flüssigkeiten schwerer zu kultivieren als die Oscillarien. Sie breitet sich weniger oder jedenfalls viel langsamer aus als jene und vermehrt sich auch nicht so rasch. Sonst sind die Unterschiede nicht beträchtlich.

1. Mannitagar. Gutes, wenn auch nicht so üppiges Wachstum wie in Kalisalpeteragar. Bald gelb werdend, aber zwischen Glas und Agar noch lange grün weiterwachsend.

2. Heydenagar. Sehr gutes Wachstum, wenngleich auch hier langsam sich ausbreitend, schließlich dickes, tiefblaugrünes schleimiges Lager, das aber nie den ganzen Agar bedeckt.

3. Peptonagar 0,2 %. Sehr wenig Ausbreitung und geringes Wachstum.

4. Gelatine. Lebt lange, ohne zu wachsen oder sich auszubreiten.

5. Asparaginagar 0,25 %. Ähnlich wie Heydenagar.

6. Fleischextraktagar 0,2 % neutral. Sehr langsame Ausbreitung. Anfangs Wachstum, dann Stillstand und Entfärbung von den Spitzen her.

7. Erbsenwasseragar. Keine Ausbreitung, stirbt sehr bald ab.

Alle diese Versuche wurden mehrfach wiederholt und zeigen, daß größere, immerhin noch recht geringe Mengen von Peptonen (Pepton Witte, Fleischextrakt, Erbsenwasser) schädlich wirken, und auch Gelatine keine Entwicklung erlaubt. Asparagin- und Heydenagar erweisten sich wieder als recht günstig, wenn sie auch nicht den Agar ohne organische Stoffe übertreffen.

Nach Beendigung des Wachstums zerfällt der *Nostoc* in der bekannten Weise in angeschwollene Dauerzellen mit dicker Membran. Mangelt es an Stickstoff, so wird er gleichzeitig mehr oder weniger entfärbt, gelb bis bräunlich. Impft man aus solchen Kulturen weiter, so ist das Anwachsen verzögert, tritt aber auch nach längerer Zeit noch sicher ein.

VI. Kultur in Mineralsalz-Lösungen.

Über die rein autotrophe Ernährungsweise der kultivierten Blaualgen habe ich nicht sehr zahlreiche systematische Versuche angestellt, da das meiste mit nur artreinem bakterienhaltigem Material auch erledigt werden könnte und der Einfluß organischer Stoffe am meisten interessierte. Doch wurden teilweise nebenher einige Erfahrungen gemacht, die die in der Einleitung aufgezählten älteren Befunde ergänzen, teilweise mußten auch als Grundlage für die Versuche mit organischen Stoffen und als Vergleichskulturen Impfungen in anorganische Lösungen vorgenommen werden. Denn ohne die Kenntnis möglichst günstiger

„mineralischer“ Nährlösungen konnte eine eventuelle Förderung durch Kohlenstoffverbindungen nicht sicher nachgewiesen werden.

Mit der Feststellung der notwendigen Elemente und der optimalen Konzentration der Lösungen habe ich mich nicht beschäftigt, weil das von anderer Seite geschehen soll. Die Fragen, die mir vorschwebten, waren vielmehr folgende:

1. Ist rein autotrophe Ernährung zur Erzielung guter Kulturen ausreichend?

2. Kann der Nitratstickstoff durch den aus Nitriten oder Ammonsalzen ersetzt werden?

3. Welche Reaktion der Lösung ist am günstigsten?

Die erste und zweite Frage waren verhältnismäßig leicht zu beantworten und zwar in bejahendem Sinne. Welche Stickstoffquelle die beste ist, kann dagegen nicht einmal für eine bestimmte Art allgemein gesagt werden, da offenbar recht verwickelte physikalisch-chemische Verhältnisse vorliegen. Noch schwieriger ist die dritte Frage zu lösen.

Wie man aus der Einleitung ersehen möge, ist die Verwendbarkeit von Nitraten so vielfältig festgestellt, daß daran, sowie an der Möglichkeit der rein autotrophen Ernährung überhaupt nicht gut gezweifelt werden kann. Was die Brauchbarkeit der verschiedenen Salze der Salpetersäure anbelangt, so ist sie in der oft erörterten Weise von der Art des Kations abhängig, das in der unveränderten Lösung vorhanden ist und nach Verbrauch des Nitrat-Anions mit der Kohlensäure der Luft entweder zu unlöslichem oder zu dissoziiertem, daher alkalisch reagierendem Karbonat zusammentritt.

Stark von der Neutralität abweichende Reaktion ist aber jedenfalls schädlich. So ist es begreiflich, daß das aus den angeführten Gründen „physiologisch neutrale“ Calciumnitrat besonders günstig wirkt. Ammoniumnitrat kann gleichfalls physiologisch neutral wirken, falls nämlich das Ammon- und das Nitrat-Jon in gleicher Weise verbraucht werden. Die Blaualgen scheinen aber das Nitrat-Jon vorzuziehen, und freies Ammoniak ist gefährlich. So möchte ich es erklären, daß Ammoniumnitrat nicht sehr günstig wirkt, und daß die Lösung gewöhnlich nach einiger Zeit alkalisch reagiert.

Bei Kaliumnitrat wird die Sache schon verwickelter. Bei *Oscillaria brevis* macht sich das zwar nicht sehr bemerkbar, da sie ziemlich unempfindlich gegen die Reaktion der Lösung ist. *Oscillaria tenuis* dagegen vermag sich nur innerhalb enger Grenzen der H- und OH-Jonenkonzentration anzupassen. Damit dürfte es zusammenhängen, daß diese Art nur dann mit Kalisalpeter ernährt werden kann, wenn die Lösung annähernd neutral ist. Zwar verträgt sie etwas Basizität, aber sie macht die Lösung stärker alkalisch und geht dann ein, wenn sie auch anfangs gut gedieh. Daher dürfen nicht zu wenig H-Jonen

in der Lösung sein; zuviel aber erst recht nicht, da diese noch giftiger wirken als die OH-Jonen. Alles dies gilt nur für künstliche Kulturen ohne organische Stoffe und ohne Colloïde. Aber auch die Gegenwart von Calciumsalzen ändert das Bild. Ist z. B. schwerlösliches tertiäres Calciumphosphat oder Calciumsulfat zugegen, so wirken diese ausgleichend auf zu starkes Ansteigen der Basizität, weil sich nun teilweise neutrales Kaliumsulfat oder -Phosphat und ausfallendes Calciumcarbonat bildet. Man bekommt dann den Eindruck, daß das Calcium unter gewissen Umständen zu den notwendigen, unter anderen zu den entbehrlichen Elementen gehört. Hier ist also Vorsicht in den Schlußfolgerungen am Platze.

Was die salpetrige Säure anbelangt, so wurde sie in Form des Kaliumsalzes verwendet und bei schwachbasischer Reaktion in Gegenwart von Calciumsalzen als recht brauchbar gefunden. Die Kulturen können ebenso üppig werden wie die in Nitratlösungen. Sehr verderblich ist aber schon die schwächste Acidität.

Von Ammonsalzen erwies sich das sekundäre Phosphat auch bei den anderen kultivierten Algen als besonders günstig. Eine zu starke Säuerung wird dabei nicht leicht auftreten, weil die Phosphorsäure verhältnismässig wenig dissoziiert und daher in dem zunächst entstehenden Monophosphat oder vielmehr Gemisch von NH_4-, PO_4-, HPO_4-, H_2PO_4- und H-Jonen mit den undissoziierten Molekülen $NH_4H_2PO_4$ die H-Jonen weniger konzentriert sind als z. B. in den Lösungen, die entstehen, wenn das Sulfat oder Chlorid des Ammoniums seines Kations beraubt wird. Fast ebenso günstig erwies sich das in reinem Wasser schwer aber doch etwas lösliche Ammoniummagnesiumphosphat. Da es in größerer Menge zugesetzt werden kann, ohne zur Entstehung von H- oder OH-Jonen Veranlassung zu geben oder durch seinen osmotischen Druck lästig zu fallen, daher auch ein Abwägen nicht nötig ist, erweist es sich als besonders bequem und wurde deshalb als Stickstoffquelle bei den Versuchen mit N-freien organischen Stoffen bevorzugt. Ammoniumsulfat und -Chlorid sind bei annähernd neutraler Lösung auch ganz brauchbar.

Die Wiedergabe eines meiner Versuche möge die Wirkung verschiedener anorganischer Stickstoffquellen dartun.

Oscillaria tenuis aus Heydenagarröhrchen vom 28. Mai 1912, geimpft am 22. Juli 1912 in:

1) 0,05% KNO_3 + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% eines Gemisches von 15 Teilen KH_2PO_4 u. 100 Teilen K_2HPO_4
2) = KNO_2 = =
3) = $(NH_4)_2SO_4$ = =
4) = $(NH_4)_2HPO_4$ = =
5) Kleine Menge NH_4MgPO_4 + 0,01% K_2SO_4

Überall Spur $FeSO_4$ und $CaSO_4$. Kölbchen mit je 50 ccm dopp. dest. Wasser.

Ergebnis am 23. Juli:

In allen Kulturen beginnen die Oscillarien auseinanderzukriechen.

29. Juli:

1. Oscillarien ganz fein auseinandergekrochen. 2. Impfklümpchen sieht schlecht aus, haftet nicht, ist aber noch grün. 3. u. 4. Ähnlich wie 1, aber besser. 5. Etwa wie 1.

2. August:

1. Mäßig. 2. Schlecht. 3.—5. Gut.

12. August:

Am besten 4., dann 5. (fast ebenso), dann 1. (auch nicht viel schlechter), dann 3. (auch noch hübsche Haut), dann 2. (Impfklümpchen gut gefärbt, aber geringe Ausbreitung in kurzen Fadenstückchen). Reaktion geprüft mit Rosolsäure: 3. Etwas gelblicher als 1., 2. u. 4., während 5. in der Mitte steht.

Es erlauben also die verschiedenen N-Quellen gutes Wachstum bis auf das Nitrit, für dessen Ausnutzung die Lösung mehr basisch sein muß, als in obigem Versuche, etwa wie sie durch Verwendung des primären Phosphates wird. Eine geeignete Nährlösung mit Nitrit als Stickstoffquelle hat z. B. folgende Zusammensetzung: 0,05% KNO_2; 0,02% K_2HPO_4; 0,01% $MgSO_4$; Spur $CaSO_4$ und $Fe_2(PO_4)_2$ in dopp. dest. W. Darin wachsen neben anderen alle in Reinkultur gewonnenen Arten recht gut. Vergl. Tafel 2, Abb. II, 2.

Das Ergebnis dieser Versuche ist also dahin zusammenzufassen, daß unter sonst günstigen Umständen für Blaualgen Nitrate, Nitrite und Ammonsalze geeignete Stickstoffquellen darstellen, daß aber zum weiteren Eindringen in diese Probleme verfeinerte physikalisch-chemische Methoden notwendig sein werden. Ich denke dabei vor allem an die genaue Verfolgung der Reaktions- und Mischungsveränderungen in den Lösungen.

In noch höherem Grade gilt das Letztgesagte für die Feststellung der optimalen Anfangsreaktion der Nährlösungen. Wie besonders Molisch und O. Richter betonen, ist schwache Alkalinität das einzig richtige. Daß das aber doch nicht so uneingeschränkt gelten kann, ersieht man aus den Angaben von Marx[1]) und Chodat und Goldflus[2]), die genügend verdünnte Lösungen, etwa 0,05%, von primärem Phosphat mit Erfolg anwandten. Allerdings stellte dabei das physiologisch-basische

[1]) F. A. Marx, Untersuch. über die Zellen der Oscillarien. Diss. Erlangen 1892.

[2]) Chodat und Goldflus, Note sur la culture des Cyanophycées et sur le développement d'Oscillatoriées coccogènes. Bull. de l'Herbier Bossier, T. V. 1901. Zitiert nach E. Strasburger, Das botan. Praktikum, 4. Aufl. Jena 1902. S. 398.

KNO_3 oder $Ca(NO_3)_2$ die Stickstoffquelle dar. Aber geringe Mengen von H-Jonen können danach doch nicht tötlich sein.

Ein Versuch wurde mit 0,02prozentigen Lösungen von käuflichem kristallisiertem primärem und sekundärem Kaliumphosphat (Merk) angestellt. Als Stickstoffquellen dienten je 0,1% von Kaliumnitrat, Kaliumnitrit und Ammoniumsulfat. Daneben wurde überall 0,01% Magnesiumsulfat und eine Spur Ferrosulfat zugefügt. Eine Parallelreihe erhielt daneben noch eine kleine Menge tertiäres Caliumphosphat. *Oscillaria brevis* war in den sauren Nitritlösungen nach wenigen Tagen tot. Im übrigen aber war der Unterschied zwischen sauren und alkalischen Lösungen nicht groß. Die calciumhaltigen erwiesen sich den anderen als überlegen.

Um genauere Ergebnisse zu erzielen, durfte nicht von den käuflichen Salzen ausgegangen werden, weil diese nie genau der Molekularformel entsprechen. Da andererseits aber Alkaliphosphate noch das beste Mittel darstellen, um bestimmte, nahe am Neutralitätspunkte liegende H- und OH-Jonenkonzentrationen herzustellen, mußte ich mir die Salzlösungen selbst bereiten. Von den für solche Zwecke empfohlenen [1]) Acetat-, Ammonium- und Phosphatgemischen dürften die letzteren für unsere Zwecke die einzig brauchbaren sein. Auch ist ja die Eigenschaft der Phosphatlösungen, ihre H-Jonenkonzentration relativ unabhängig von der Konzentration, von Beimengungen und von der Temperatur beizubehalten, allerdings wohl meist unbewußt, in der Nährlösungstechnik oft genug mit Erfolg ausgenutzt worden.

Für meine Zwecke habe ich denn eine (nicht durch Titration eingestellte) Phosphorsäurelösung von bestimmtem Gehalt von Kahlbaum bezogen und mit einer auf Normaloxalsäure eingestellten Kalilauge vermischt. Von den so hergestellten einhalbnormalen Lösungen, die solchen von primärem und sekundärem Phosphat entsprachen, wurden verschiedene Mengen gemischt und damit die Nährlösungen versetzt, sodaß diese dann $^1/_{100}$ und in einem Versuche $^1/_{400}$ Mol Phosphate enthielten. Calciumsalze mußten wegen des zu befürchtenden Ausfallens von Calciumphosphat in den mehr basischen Lösungen vermieden werden. Auch von Magnesiumsalz durften aus demselben Grunde nur geringe Mengen zugegen sein. Als Stickstoffquelle kam daher Ammoniumnitrat und Ammoniumsulfat in Verwendung, ferner wurde 0,01 oder 0,02% Magnesiumsulfat und eine Spur Ferrosulfat hinzugefügt.

Die Ergebnisse sind noch nicht klar genug, um sie hier im einzelnen mitzuteilen, doch scheint die Methode zum Ziel zu führen.

[1]) L. Michaelis, Methoden zur Herstellung bestimmter Wasserstoffionenkonzentrationen, Abderhaldens Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden. Bd. III, 2. Berlin u. Wien 1910, S. 1337 ff.

Jedenfalls kann man damit zeigen, daß ganz schwach sauere und etwas basische Reaktion vertragen wird. Die Grenzen sind im einzelnen Versuch scharf, verschieben sich aber je nach der sonstigen Zusammensetzung der Lösung.

Damit sind die an reinen anorganischen Nährsalzlösungen gemachten Erfahrungen wiedergegeben. Auf die Verhältnisse in der Natur darf ihre Geltung nur mit Vorsicht erweitert werden. Das zeigen schon die Versuche mit Agar, Kieselgallerte und Erdabkochung. Alle diese Substanzen sind geeignet, die Schädlichkeit sonst unbrauchbarer Nährgemische herabzusetzen und auch die Giftigkeit des käuflichen destillierten Wassers, die wie für Conjugaten[1]), so auch für Blaualgen, wenn auch in verringertem Maße gilt, aufzuheben. Deshalb bin ich jetzt der Meinung, daß die in der ersten Mitteilung betonte günstige Wirkung des Agars und der Humusstoffe bei der Algenkultur mindestens z. T. auf der Adsorption schädlicher Stoffe beruht, die ebenso von anderen Colloiden übernommen werden kann.

Eine Lösung von 0,1% KNO_3, 0,025% $MgSO_4$ und 0,025% K_2HPO_4 in käuflichem destillierten Wasser z. B. war für Blaualgen ganz unbrauchbar. Mit Agar, Kieselgallerte oder Erdabkochung aber erlaubte sie üppige Vermehrung. Daß hieran nicht etwa nur die Zufuhr von Eisenverbindungen schuld war, zeigte die Unfähigkeit solcher, die obige Lösung zu verbessern. Natürlich ist diese Hypothese noch nicht genügend gestützt, aber sie kann zu neuen Untersuchungen anregen. Vielleicht darf sogar die so häufige Schleimabsonderung bei phanerogamen Wasserpflanzen und Algen in ähnlichem Sinne gedeutet werden.

Neben den zahlreichen Agar- und Kieselgallertekulturen möge der folgende Versuch als Beispiel für das Gesagte dienen.

Am 5. Oktober 1911 wurden sieben Cyanophyceenarten, meist Oscillarien, ein *Nostoc* und eine *Schizothrix* in eine Lösung von 0,1% KNO_3, 0,025% $MgSO_4$ und 0,025% K_2HPO_4 in käuflichem destilliertem Wasser geimpft und zum Vergleich in eine solche, die daneben noch Erdeauszug enthielt. Am 25. Oktober hatten sich in der erstgenannten Lösung nur zwei Arten ein klein wenig ausgebreitet, deutlich vermehrt hatte sich keine. In der Lösung mit Erdeauszug waren alle gut gewachsen und entwickelten sich schließlich zu sehr üppigen Kulturen.

Eine starke Förderung durch Humusstoffe ist ja von anderen Mikroorganismen auch bekannt geworden, besonders von *Azotobakter*. Nachdem man anfänglich von einer schwer definierbaren „Reizwirkung“ gesprochen hatte, kam man schließlich darauf, den mineralischen Be-

[1]) Vgl. 1. Mitteilung, Die Kultur von Algen in Agar, Diese Beiträge, Bd. XI, S. 328.

standteilen des Humus, besonders den Eisenverbindungen[1]), eine große Bedeutung beizumessen, ohne daß dadurch die Frage ganz geklärt wäre[2]). Vielleicht kann die hier betonte Adsorptionskraft kolloidaler Stoffe die anderen Erklärungsmöglichkeiten ergänzen, was um so wahrscheinlicher ist, als nach Benecke (a. a. O.) „die Gegenwart von Humusstoffen" bei *Azotobakter* „nicht so notwendig ist, wenn man ihn auf festen Böden, z. B. Agar, züchtet".

VII. Kultur in Nährlösungen mit organischen Stoffen.

Um den Einfluß organischer Verbindungen auf irgend einen Organismus kennen zu lernen, ist die Verwendung von Lösungen möglichst genau bekannter Zusammensetzung und längere Beobachtung erforderlich. D. h., auf Pflanzen angewendet, es müssen Reinkulturen zur Verfügung stehen, da nur diese die Wirkung organischer Stoffe während längerer Zeit ungestört zu verfolgen erlauben; und weiter, es muß die Vermehrung der betreffenden Organismen aus kleinen Anfängen heraus in Nährlösungen, die alles zum Gedeihen Notwendige enthalten, genau beobachtet werden.

Nur so können Fehler vermieden werden, die dadurch entstehen, daß irgend ein Stoff zwar nicht tötlich, aber entwicklungshemmend wirkt, [wie z. B. Gelatine bei dem kultivierten *Nostoc*] und daß ein anderer vielleicht anfangs leidliche Vermehrung erlaubt, durch Umsetzung in irgend einen giftigen Stoff aber schließlich doch tötlich wird. Bei den hier in Betracht kommenden fädigen Blaualgen kommt dann noch ein Umstand hinzu, der die Beurteilung erschwert. Beim Impfen wird nämlich, wie oben gezeigt, stets ein zusammengeballtes Knäuel übertragen, dessen mehr oder weniger große Ausbreitung einen verschiedenen Grad der Vermehrung vortäuschen kann. Die Kultur muß deshalb stets solange aufbewahrt werden, bis das Wachstum der Algen zweifellos festgestellt ist oder jede Hoffnung auf eine Entwicklung aufgegeben werden muß.

Vielfach zeigt zwar schon die Schnelligkeit der Ausbreitung das Wohlbefinden der Faden-Cyanophyceen an, aber diese Regel ist doch nicht ohne Ausnahme. Unter Umständen kann auf ein schnelles Auseinanderkriechen sehr langsame Vermehrung oder selbst Absterben folgen, und umgekehrt können auch zusammengeballt bleibende Fäden in diesem Zustande weitere Zellteilungen erfahren und zu einer

[1]) New Jersey State Report of the Agricultural Station. 1903, S. 276, 1905, S. 269.

[2]) W. Benecke, Bau und Leben der Bakterien. Leipzig u. Berlin 1912, S. 504 f. und die dort angeführte Literatur.

ziemlich großen, dichten Kugel heranwachsen. Beispiele werden unten gegeben werden. (Vergl. Protokolle, Anhang S. 101.)

Bei der Einwirkung irgend eines Stoffes auf einen Organismus sind ganz allgemein drei Fälle zu unterscheiden: Die betreffende Substanz kann schädlich, wirkungslos und förderlich sein. Fast immer läßt sich die Entscheidung, welcher Fall vorliegt, nicht leicht treffen, da die Konzentration eine große Rolle spielt, und je nach dieser alle drei Möglichkeiten an ein und demselben Stoffe angetroffen werden können. Manche Organismen, wie z. B. die meisten Pilze und Bakterien, sind gegen die Konzentration organischer Stoffe, abgesehen von den bekannten „Giften" ziemlich unempfindlich. Für die Mehrzahl der Algen und im besonderen für Blaualgen gilt das nicht. Hier mußte daher der Konzentration der betreffenden Stoffe einige Aufmerksamkeit geschenkt werden.

Das Interesse konzentrierte sich bei meinen Untersuchungen natürlich hauptsächlich darauf, ob eine Förderung durch organische Stoffe eintritt, d. h. ob von „mixotropher" Ernährung gesprochen werden kann. Diese müßte sich dann darin zeigen, daß die Assimilationstätigkeit z. T. oder schließlich auch ganz durch die Verarbeitung organischer Stoffe ersetzt werden könnte, oder daß organische Stickstoffquellen besonders günstig wären. Um die Antwort vorweg zu nehmen, so wuchsen in allen meinen Hunderten von Kulturen mit organischen Stoffen die Blaualgen bestenfalls wenig besser, als in den günstigsten mineralischen Nährsalzlösungen. Eine sichere Vermehrung im Dunkeln konnte nie beobachtet werden. Neben der etwa auftretenden Förderung wurde auch auf die Schädigung durch organische Stoffe geachtet. Hier ist das Ergebnis dahin zusammenzufassen, daß gerade diejenigen Verbindungen, die als gute Nährstoffe für Pilze und Bakterien bekannt sind, nur in sehr geringer Konzentration vertragen werden.

Die Resultate der ausgeführten Kulturreihen will ich nach der chemischen Natur der organischen Verbindungen anordnen. Es sind organische Säuren, höhere Alkohole, Zuckerarten und organische Stickstoffverbindungen, wie Eiweißstoffe und deren Abbauprodukte verwendet worden.

A. Organische Säuren.

Von organischen Säuren ist es bekannt, daß sie gerade für chlorophyllführende Mikroorganismen zur Ernährung geeignet sind[1]). Wenn auch Zumsteins[2]) Befunde von *Euglena gracilis* nach meinen Unter-

[1]) O. Richter, Die Ernährung der Algen. Leipzig 1911. S. 36 f.

[2]) Zumstein, Zur Morphologie und Physiologie der *Euglena gracilis* Klebs, Jahrb. f. wissenschaftl. Bot. Bd. 34, 1900.

suchungen[1]) in der Beziehung etwas zweifelhaft geworden sind, so bleiben neben manchen anderen doch die Befunde von Treboux[2]), dem es glang, eine ganze Reihe von Formen sogar im Dunkeln mit organischen Säuren zu ernähren.

Hier seien zunächst die stickstoffreien Verbindungen berücksichtigt, über Aminosäuren wird man weiter unten einiges finden.

Er wurde Essigsäure, Weinsäure, Zitronensäure, Apfelsäure, Milchsäure, Bernsteinsäure, Buttersäure und Oxalsäure als Ammon- oder Calciumsalz in verschiedenen Konzentrationen geprüft.

Oscillaria tenuis wird durch zitronensaures Ammon etwas gefördert. Die anderen Säuren sind entweder indifferent oder bei höherer Konzentration schädlich.

Oscillaria brevis zeigt gleichfalls kaum eine ernährende Wirkung organischer Säuren. Nur bei Milchsäure war das Wachstum ein klein wenig besser als in anorganischer Lösung. Essigsäure ist schädlich, die anderen bei genügender Verdünnung unwirksam.

Nostoc spec. Keine Förderung durch irgend eine der organischen Säuren. Milchsäure und Essigsäure schädlich. (Vgl. Protokolle S. 92.)

B. Höhere Alkohole.

Aus der Alkoholreihe habe ich wegen der bekannten Giftwirkung der einwertigen Verbindungen nur die drei- und mehrwertigen geprüft. Die Verwendbarkeit, besonders des Glyzerins und Mannits für die Ernährung von Mikroorganismen ist bekannt. Außerdem wurden Erythrit und Sorbit geprüft.

Im ganzen ist eine Förderung durch die organischen Stoffe auch hier kaum zu bemerken. Nur *Oscillaria tenuis* scheint durch Mannit und Sorbit etwas günstig beeinflußt zu werden, ohne daß das besonders deutlich wäre. Eine Verzögerung des Wachstums ist bei dem *Nostoc* zu erkennen, das sich aber schließlich noch erholt. Das Kriechen scheint bei *Oscillaria tenuis* durch Glyzerin gehemmt zu werden. Auf eine Schädigung des Stoffwechsels darf daraus aber nicht geschlossen werden. (Vgl. Protokolle S. 95 ff.)

C. Kohlehydrate.

Mit den verschiedenen Zuckerarten, Pentosen, Hexosen, Disacchariden und Polysacchariden habe ich wegen deren ernährungsphysiologischer Bedeutung etwas mehr Versuche angestellt als mit den oben behandelten Stoffen.

---

[1]) Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen. II. Mitt. *Euglena gracilis*. Diese Beiträge. Bd. XII, S. 38.

[2]) O. Treboux, Organische Säuren als Kohlenstoffquelle bei Algen. Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch. Bd. 23. 1905, S. 432.

Zur Anwendung kamen:

Glukose, Fruktose, Galaktose, Arabinose, Saccharose, Milchzucker, Maltose, Inulin, Dextrin, Glykogen.

Monosaccharide: *Oscillaria tenuis* wird durch Glukose und Galaktose gefördert, durch die beiden anderen Monosaccharide nicht beeinflußt. *Oscillaria brevis* ist dankbar für Fruktose, Galaktose und Arabinose. Bei *Nostoc spec.* wird das Wachstum nach längerer Zeit durch Galaktose und Arabinose etwas verbessert, aber weniger als bei den Oscillarien. Eine Gesetzmäßigkeit in der Wirkung der geprüften Monosaccharide auf die Blaualgen ist also nicht zu erkennen.

Di- und Polysaccharide: *Oscillaria tenuis* und *brevis* werden durch diese Zuckerarten garnicht beeinflußt, scheinen sie auch nicht zu hydrolysieren. *Nostoc spec.* wird durch sehr geringe Konzentration von Rohrzucker, Malzzucker, Dextrin und Glykogen nach längerer Einwirkung vielleicht ein klein wenig gefördert. (Vergl. Protokolle S. 97 ff.)

D. Organische Stickstoffverbindungen.

Nachdem oben gezeigt worden ist, daß Blaualgen die verschiedenartigsten anorganischen Stickstoffverbindungen verwerten können, mußte gefragt werden, ob sie ihren Stickstoffbedarf auch aus organischen Stoffen zu entnehmen imstande sind, die ja in besonders hohem Maße von anderen Mikroorganismen verarbeitet werden. Bei der wiederholt ausgesprochenen Vermutung, daß Cyanophyceen geringe Mengen organischer Stoffe brauchen dürften[1]), wird man wohl vorwiegend an die Deckung des Stickstoffbedarfs gedacht haben. Abgesehen davon kommt dem Einfluß der organischen Stickstoffverbindungen auf das Wachstum der Blaualgen dasselbe Interesse zu, wie dem der anderen organischen Substanzen.

Eiweißstoffe. Geprüft wurden: Tropon, Heydennährstoff, Serumalbumin, Albumin aus Eiweiß, Kasein und Legumin. Alle verwendeten Blaualgen wuchsen in den meisten eiweißhaltigen Flüssigkeiten, in denen nach dem Kochen nur Spuren gelöst waren, recht gut und zeigten durch langandauernde, üppige Vermehrung die Ausnutzung dieser Substanzen als Stickstoffquellen. Auffallend war das Ausbleiben des Auseinanderkriechens besonders bei *Oscillaria tenuis* in diesen Lösungen, sowie in solchen mit Pepton. Während diese Art kaum einen Unterschied zwischen den gebotenen Substanzen machte, waren die anderen beiden wählerischer, worüber in der Besprechung der Protokolle nachzulesen ist.

---

[1]) Vgl. z. B. E. Küster, Kultur der Mikroorganismen, Berlin und Leipzig 1907 und das dortige Zitat über Schlössing und Laurent.

Eiweißabbauprodukte. *Oscillaria tenuis* verwertete Pepton und Asparagin sehr gut, während Leucin, Glycocoll und Acetamid als Stickstoffquellen ungeeignet waren. Bei *Oscillaria brevis* war das Ergebnis ähnlich, nur war hier auch Glycocoll gut. Der Nostoc vertrug nur niedere Konzentrationen, wuchs dann aber mit Pepton, Asparagin und Acetamid recht gut. Die ersten beiden Substanzen sind also für alle drei Arten günstig, Leucin für alle schlecht, während Glycocoll und Acetamid verschieden wirken. (Vgl. Protokolle S. 100 ff.)

Im ganzen ist also die Neigung der kultivierten Blaualgen organische Stoffe zu verarbeiten, gering. Einzig und allein die Monosaccharide zeigten teilweise eine günstige Wirkung, die vielleicht bei schwächerer Beleuchtung deutlicher geworden wäre. Bei einigermaßen gutem Lichte reicht aber offenbar die Assimilationsarbeit für annähernd optimales Wachstum aus. Dagegen sind die Cyanophyceen imstande, ihren Stickstoffbedarf aus den verschiedenartigsten organischen Verbindungen zu decken, ohne daß aber diesen ein Vorzug vor den anorganischen Stoffen eingeräumt wäre. Auch hierin zeigt sich schließlich die auffallende Indifferenz gegen organische Stoffe.

VIII. Dunkelkulturen.

Da es sich im Laufe der Untersuchungen immer mehr gezeigt hatte, wie wenig organische Stoffe die Entwicklung der Cyanophyceen fördern, so war die Aussicht gering, eine ganze heterotrophe Ernährung zu erzielen, d. h. die Blaualgen im Dunkeln zum Wachsen zu bringen.

Trotzdem mußte diese Frage angeschnitten werden. Das Ergebnis der Bemühungen war bei den reinkultivierten Arten gänzlich negativ. Damit ist natürlich für die große Masse der übrigen Spezies noch nichts entschieden. Wenn man z. B. sieht, wie *Nostoc punctiforme* in Gunnera-Rhizomen, die mit Erde bedeckt sind, gedeiht, so macht es fast den Eindruck, als läge hier eine vollkommene Heterotrophie vor.

Meine Versuche wurden zunächst mit Agarschrägröhrchen angestellt, wobei ich die Substrate bevorzugte, die besonders gutes Wachstum ergeben hatten, also vor allem Heyden- und Asparaginagar. Daneben wurden auch die anderen oben (S. 71.) angeführten Mischungen verwendet, soweit sie sich als nicht schädlich erwiesen hatten. Alle drei reinkultivierten Cyanophyceen breiteten sich darauf im Dunkeln aus und blieben wochenlang lebend, ohne sich aber zu entwickeln. Wenn man sie rechtzeitig ans Licht brachte, setzte die Vermehrung ein.

Etwas eingehender soll hier ein Versuch mit Flüssigkeitskulturen behandelt werden, bei dem eine Parallelreihe dem Lichte ausgesetzt wurde. Diese ist zugleich ein Beispiel für die Wirkung von Kohlehydraten bei gleichzeitiger Gabe organischer Stickstoffquellen. Die Kombination wurde für die Dunkelkulturen gewählt, weil ich mir sagte, daß eine solche komplete organische Nährlösung, die auch den anspruchsvolleren unter den heterotrophen Bakterien und Pilzen alles Nötige geboten hätte, den günstigsten Fall für eine etwaige Vermehrung im Dunkeln darstelle. Das Versuchsobjekt war die *Oscillaria brevis*, die unter den zur Verfügung stehenden Blaualgen noch am meisten durch organische Stoffe gefördert wird. Unter diesen wurden wieder die günstigsten ausgesucht. Dementsprechend war auch ihr Wachstum im Hellen recht reichlich, besonders in Gegenwart von Pepton. Im Dunkeln breiteten sich die Oscillarien anfangs normal aus, blieben auch lange gut gefärbt, vermehrten sich aber nicht im geringsten! (Vgl. Protokolle S. 106.)

Nach diesem Ergebnis schienen weitere Versuche wenig aussichtsvoll; doch wurden noch einige gleichfalls negative Erfahrungen mit den anderen Cyanophyceen gesammelt, nach denen ich wohl im Recht bin, die ganz heterotrophe Ernährung für meine Blaualgen als unmöglich zu bezeichnen, denn es ist nicht wahrscheinlich, daß es organische Stoffe gibt, deren Ausnützung sehr viel günstiger ist. Soviel läßt sich schon aus den Lichtkulturen schließen. Ob bei anderen Arten ein Erfolg zu erzielen wäre, muß ich dahingestellt sein lassen. Bouilhac hat sich möglicherweise durch die Ausbreitung der Fäden oder durch eine Gewichtsvermehrung infolge von Bakterienwachstum täuschen lassen.

IX. Schluß.

Die meist rein physiologischen Gesichtspunkte dieser Arbeit und die geringe Anzahl der genauer untersuchten Arten machen ins Einzelne gehende ökologische Schlüsse vorläufig unmöglich. Immerhin dürfte mindestens die Grundlage für eine extensivere Forschungsweise gegeben sein. Diese wird dem Ideale zustreben müssen, die Lebensgewohnheiten der einzelnen Arten, d. h. also deren Standortsverhältnisse, physiologisch zu deuten. Hierbei werden die Ernährungsverhältnisse im Vordergrunde stehen müssen, aber auch die Bewegungserscheinungen und die Ansprüche an die physikalische Natur der Umgebung werden berücksichtigt werden müssen. Ich denke hierbei etwa an die Erscheinung der Wasserblüte, bei deren Zustandekommen die physikalische und chemische Beschaffenheit der betreffenden Gewässer ausschlaggebend sein dürfte.

Bei den empfindlicheren Arten wird die Konzentration der Stickstoffquelle, die Azidität der Nährflüssigkeit, ihr Sauerstoffreichtum und anderes zu berücksichtigen sein.

Darf man aus den untersuchten Fällen, soweit sich die drei Arten gleich verhalten, allgemeine Schlüsse ziehen, so ist vor allem die vorwiegend autotrophe Ernährung der Blaualgen hervorzuheben. Diese haben zwar die Fähigkeit, organische Stickstoffquellen auszunutzen, erfahren durch sie aber eine ebensowenig in Betracht kommende Förderung wie durch andere organische Stoffe. Die wohl ziemlich verbreitete Ansicht, daß die Cyanophyceen vielfach mixotroph seien, dürfte auf zwei Ursachen zurückzuführen sein, einmal auf die Schwierigkeit, sie in den für höhere Pflanzen gebräuchlichen Nährlösungen zu kultivieren, andererseits auf das Vorkommen in verschmutzten Gewässern.

Die Unfähigkeit, in den Nährlösungen von Sachs, Pfeffer etc. zu wachsen, dürfte, wenn nicht deren saurer Reaktion, so nach Beseitigung derselben gewissen häufigen Verunreinigungen durch Schwermetallspuren zuzuschreiben sein, gegen die die Cyanophyceen wie auch andere Algen äußerst empfindlich sind. Was das Vorkommen in verschmutzten Gewässern anbelangt, so ist dieses wohl nicht dem Nahrungsreichtum der betreffenden Orte, sondern im Gegenteil der Widerstandsfähigkeit der Oscillarien gegen Fäulnisstoffe, wie z. B. Schwefelwasserstoff, zuzuschreiben, sowie der Vorliebe für sauerstoffarme Standorte. Diejenigen organischen Substanzen, die als gute Nährstoffe für Pilze und Bakterien bekannt sind, werden in höherer Konzentration gefährlich, sind aber in Bruchteilen von Prozenten indifferent.

Der eigenartige „schlammige" Geruch, der allen Fundorten von Oscillarien gemeinsam ist, kommt diesen letzteren selbst und allein zu. Er ist bei allen Oscillarien-Kulturen unverkennbar, fehlte aber den übrigen untersuchten Blaualgen.

Die Gestalt und Farbe der einzelnen Arten erweist sich in allen verschiedenen Nährlösungen als konstant, bis auf die bei der schließlichen Verarmung an Nahrungsstoffen eintretenden Veränderungen. Mit bloßem Auge erkennbar ist der Übergang der Tönung ins Gelbliche bis zu strohgelber oder rötlicher Verfärbung, wie das von Magnus und Schindler[1]) vor kurzem studiert worden ist. Ihre Angaben kann ich durchaus bestätigen. Nur scheint zuweilen die Einstellung des Wachstums nicht gleichzeitig mit der Gelbfärbung, sondern später zu erfolgen. Auch finden sich in der vorliegenden Arbeit Beispiele für die Förderung der Verfärbung durch gewisse organische

[1]) W. Magnus und B. Schindler, Über den Einfluß der Nährsalze auf die Färbung der Oscillarien. Ber. d. deutsch. bot. Gesellschaft 1912. Bd. 30, S. 314.

Stoffe. Aber das sind unwesentliche Zusätze zu den zweifellos richtigen Ergebnissen der genannten Autoren. Mannigfaltige Versuche mit Farbstofffiltern, auf deren Veröffentlichung ich nunmehr verzichte, ergaben nie eine mit der gewählten Beleuchtung komplementäre Färbung.

Neben der Verfärbung älterer Kulturen ist bei den Oscillarien oft ein Zerfall in kurze Stücke, bei dem Nostoc die bekannte Bildung von runden, sporenartigen Einzelzellen zu beobachten. In solchem Zustande bleibt aber die Algenmasse noch lange Zeit entwicklungsfähig.

X. Zusammenfassung.

1. Blaualgen können durch Plattenguß mit Salpeteragar speziesrein erhalten werden.

2. Sie von Bakterien zu befreien, gelingt bei beweglichen Formen durch fortgesetzte Weiterimpfung unter Verwendung von Kieselsäuregallerte; doch werden immer nur einzelne Fäden bakterienfrei, die durch Übertragen auf Agar mit organischen Stickstoffverbindungen herauszufinden sind.

3. Die Widerstandsfähigkeit gegen organische Stoffe ist sehr verschieden. Im allgemeinen schädigen höhere Konzentrationen. Sehr geringe werden ertragen, können z. T. auch schwach fördernd wirken. Das gilt besonders für die Zuckerarten.

4. Die Förderung durch organische Stoffe ist nie sehr deutlich und meist garnicht zu beobachten.

5. Die verschiedensten organischen Stickstoffverbindungen können verarbeitet werden, ohne aber den anorganischen wesentlich überlegen zu sein.

6. Rein autotrophe Ernährung gelingt mit Nitraten, Nitriten und Ammonsalzen bei schwachbasischer oder neutraler Reaktion.

7. Je nach der Ernährung ist der Habitus der Kulturen recht verschieden. Das Ausbleiben der Ausbreitung fällt nicht immer mit Vermehrungsunfähigkeit zusammen.

8. Heterotrophe Ernährung mit organischen Stoffen im Dunkeln ist nicht gelungen.

9. Verschiedenfarbiges Licht hat keinen Einfluß auf die Färbung der Blaualgen, die aber mit der Ernährung in bestimmter Weise wechseln kann.

Anhang.

Einige Protokolle und deren Besprechung.

Gang der Isolierungsversuche.

Da die Wiedergabe aller Aufzeichnungen über meine Versuche mit den verschiedenen Blaualgen zu viel Raum beanspruchen würde, will ich im folgenden nur kurz den Gang der Kulturen an den bakterienfrei gewonnenen Arten wiedergeben.

a. *Oscillaria tenuis.*

Diese kräftig blaugrüne Form wurde in meinen Protokollen zunächst als Oscillaria IV gekennzeichnet. Sie trat zuerst im Frühling 1911 in einer alten abgeblühten Algenkultur auf, und zwar in Gestalt feiner Schleier, die sich zuweilen zu schlauchartigen Gebilden zusammenwickelten. Die Fäden waren recht dünn. Da die Bestimmung der Arten nur an den in Reinkultur gewonnenen Formen und deshalb viel später geschah, mögen diese Angaben für die Kennzeichnung hier genügen.

Am 22. Mai 1911 wurde in eine Lösung geimpft, die aus einer Spur Ammoniummagnesiumphosphat in Leitungswasser bestand. Es bildete sich bald ein zartes Netz von hellblaugrüner Farbe am Grunde des Gefäßes, das wenig am Glase in die Höhe kroch, sich aber bald vom Boden erhob und am 26. Mai einen feinen Schleier an der Oberfläche bildete. Am 3. Oktober reichlich, teils blaugrün, teils braun, Haut durch Blasen aufgetrieben.

Am 10. Juni wurde 1. in ziemlich konzentrierte Erdabkochung von brauner Farbe, 2. in dieselbe bis zu weingelber Farbe verdünnt, 3. in die verdünnte Lösung + 0,1% KNO_3 geimpft. Am 24. Juni zeigt 1. eine wenig ausgebreitete, kräftig blaugrüne Masse am Rande des Flüssigkeitsspiegels, 2. ist ähnlich, aber mehr ausgebreitet, noch üppiger, und 3. ebenso.

Am 27. Juni aus der Kultur mit verdünntem Erdeauszug vom 10. Juni

1. in dieselbe Flüssigkeit,
2. in eine Lösung von 0,2% KNO_3, 0,025% $MgSO_4$ und 0,025% K_2HPO_4,,

zu der eine Spur gefällter Humussäure[1]) getan wurde. Es löst sich in der schwach alkalischen Lösung nur sehr wenig.

Am 3. Juli in 1. sehr gutes Wachstum wie früher, in 2. feines Netz am Boden, dauernd sauber aussehend.

Von 2. am 14. Juli 1911 auf einen Gipsblock von der oben (S. 53) beschriebenen Form geimpft, der in einer Deckelschale sich befindet und mit einer Lösung getränkt ist, die aus verdünntem Erdeauszug + 0,1% KNO_3 + 0,025% $MgSO_4$ + 0,025% K_2HPO_4 besteht.

Die Oscillarien haben sich am 24. Juli schön ausgebreitet und bilden auf der Oberfläche des Gipses die bezeichnenden Wirbel, doch machen sich noch kleine Grünalgen (Scenedesmus) bemerkbar. Nur auf einer Seite rein blaugrün, wodurch es aber gelingt, die Art speciesrein zu bekommen.

[1]) Dargestellt durch Ausziehen von Gartenerde mit Ammoniak und Fällen der gelösten Humussäure mit Salzsäure, sowie sorgfältiges Auswaschen.

Hiervon am 5. Oktober in Erdabkochung + KNO_3 usw. wie oben und daraus am 28. Oktober 1911 Material für das Gießen von Petrischalen entnommen. Es wurde gewässerter Agar mit 0,1% KNO_3, 0,025% $MgSO_4$ und 0,025% K_2HPO_4 verwendet.

Darin sind am 5. Dezember die Oscillarien gut gewachsen. Erst zeigen sich kleine blaugrüne Fleckchen, bald aber breiten sich die Blaualgen über die ganze Platte aus. Zwischen den Oscillarien zahlreiche sehr klein bleibende Bakterienkolonieen. Es wurde nun dieses Plattengießen mit demselben Ergebnis öfters wiederholt, indem jedesmal wenig Oscillarienmaterial von den reinsten Agarstellen entnommen wurde. Immer aber traten doch wieder Bakterien dazwischen auf. Dabei zeigte sich, daß ungewässerter Agar die Oscillarien, freilich auch die Bakterien besser ernährte als der gewässerte.

Am 25. Januar 1912 war doch ein gewisses Zurückdrängen der Bakterien erzielt, fremde Algen und Pilze waren nicht mehr zu fürchten. Es wurde deshalb Impfung auf die Oberfläche der erstarrten Agarmasse gewagt, und zwar wurde ungewässerter Agar mit Kalisalpeter und den anderen Nährsalzen verwendet. Anfangs zeigten sich um die Impfmasse Bakterien, aus denen sich aber die strahlig nach außen kriechenden Oscillarien bald befreiten. Am 22. April 1912 war eine üppige Schicht von Oscillarien herangewachsen. Da diese schön rein aussah, wurde am nächsten Tage (23. April 1912) in Reagensgläser mit schrägerstarrtem Agar geimpft, und zwar

1. Agar mit 0,5% Pepton,
2. Agar mit Erdeauszug und Kalisalpeter.

Am nächsten Tage zeigen beide den Beginn der Ausbreitung, am 25. April ist auf Peptonagar Bakterienwachstum zu bemerken, aber die Oscillarienfäden sind schon weit von der Impfstelle. Auf Erdeauszugagar sieht die weit ausgebreitete Algenmasse hübsch sauber aus. Aber weder die Abimpfungen von den scheinbar bakterienfreien Fäden von Peptonagar noch die von dem zweiten Röhrchen erweisen sich auf Peptonagar als rein.

Nun wurde die Kieselgallerte herangezogen, über deren Herstellung oben berichtet wurde (vgl. S. 55.) Die in Leitungswasser gut gewässerten Gallertschichten in den Petrischalen wurden für drei Stunden mit folgenden Lösungen überschichtet:

1. 0,1% KNO_3 + 0,025% $MgSO_4$ + 0,025% K_2HPO_4,
2. ebenso, dazu Erdeauszug.

Hierauf wurden die Lösungen abgegossen. Die Gallerte bei 1. deutlich bräunlich. Sterilisiert im Autoclaven bei 2 Atmosphären. Dadurch die Schicht etwas zerrissen und blasig. Viel Kondenswasser. Den nächsten Tag Impfung, und zwar am 21. Mai 1912 aus dem Röhrchen mit Erdeauszug + KNO_3-Agar vom 23. April.

Am 22. Mai in beiden Schalen starke Ausbreitung, einzelne Fäden schon viel umhergekrochen. Man sieht ihre Spuren (vgl. S. 58). Dem guten Kriechvermögen dieser Art auf Kieselgallerte habe ich es zu verdanken, daß sie als erste rein kultiviert werden konnte.

Am 30. Mai ist die Oscillaria IV in 1. Sehr üppig und schön ausgebreitet, keine Pilze, Bakterien nicht zu sehen. 2. Weniger gut, aber auch ganz schön, Pilze, die zwar nicht stark wachsen, aber doch eine reine Abimpfung unmöglich machen. Später überwuchern die Oscillarien die Pilze, und am 21. Juni ist diese Schale noch üppiger als die ohne Erdeauszug, allerdings fangen die Oscillarien nun an einer Seite an gelblich zu werden.

Von der Schale 1. vom 21. Mai wurde am 28. Mai 1912 ein Stückchen Gallerte vom Rande mit wenig Fäden in ein Röhrchen mit schräg erstarrtem Heydenagar[1]) übertragen. Am 21. Juni ziemlich viel hell ausschende Oscillarienfäden über die Oberfläche ausgebreitet, die frei von Bakterien ist und bleibt.

Hiermit ist die erste sichere Reinkultur von Blaualgen gewonnen.

Die Kultur wird später recht üppig und nimmt schöne spangrüne Farbe an. Alle späteren Abimpfungen bleiben bakterienfrei.

---

[1]) Dieser für Wasserbakterien empfohlene Nährboden wurde durch Kochen von 0,8% Heyden-Nährstoff mit 2% Agar-Agar im Autoclaven und Filtrieren gewonnen.

Ähnlich verliefen die Versuche mit den anderen in Kultur genommenen Arten, von denen aber nur fünf bis zur Impfung auf Kieselgallerte beibehalten und noch zwei in Reinkultur gewonnen wurden. Es kann hier natürlich nur eine kleine Auswahl aus der sehr großen Zahl von Versuchen mit den verschiedensten Nährböden und Lösungen geschildert werden.

b. *Oscillaria brevis.*

Als zweite wurde in Reinkultur gewonnen die Oscillaria X, eine dunkelgraugrüne Art mit etwas dickeren Fäden als die von IV. Sie stammte aus einem Jaucheabfluß, durfte also als Schmutzform für Ernährungs-Versuche mit organischen Stoffen als besonders geeignet gehalten werden.

Die erste Kultur vom Ursprungsmaterial wurde am 12. September 1911 in einem Kölbchen mit Erdeauszug und Kalisalpeter angelegt. Von den am Glase in die Höhe kriechenden Fäden, die, wie es schien, nur einer Art angehörten, wurde am 27. Oktober 1911 eine Platte in gewässertem KNO_3-Agar angelegt. Am 5. Dezember zeigte sie sich gut ausgebreitet, aber nicht sehr üppig gewachsen, wohl wegen des schlechten Lichtes. Am 8. Januar 1912 war die Kultur immerhin ganz gut, fremde Algen und Pilze zeigten sich nicht, die Bakterienkolonien blieben klein. Mit Material aus dieser Schale wurde am 21. November 1911 eine weitere Platte mit ungewässertem KNO_3-Agar gegossen, die am 27. Januar nicht sehr viel, aber weit ausgebreitete Fäden neben wenig Pilzen und Bakterien zeigte. Am 22. April 1912 war diese Schale sehr üppig, tiefgraugrün, mit seidenartigem Glanz der dichtverflochtenen Oscillarienfäden.

Aus der Schale vom 27. Oktober wurde über mehrere Zwischenstufen schließlich am 23. Februar 1912 auch eine Impfung auf die Oberfläche von erstarrtem gewässertem KNO_3-Agar in der Petrischale angelegt. Am 22. April 1912 sah diese Schale sehr günstig aus, üppig gewachsen, ohne mit bloßem Auge sichtbare Bakterien bis auf die Umgebung der Impfstelle.

Eine Impfung hieraus in ein Reagensglas mit schräg erstarrtem Peptonagar vom 23. April 1912 zeigte am nächsten Tage den Beginn der Ausbreitung, am 25. zwar Bakterien an der Impfstelle, aber weit ausgebreitete Fäden über den ganzen Agar. Noch besser war das Wachstum in einem Schrägröhrchen mit Erdabkochung + KNO_3-Agar vom selben Tage. Impfungen aus diesen beiden Röhrchen von möglichst vom Impffleck entfernten Stellen im Peptonagar ergaben immer wieder Bakterienwachstum, eine Erfahrung, die an scheinbar reinen Kulturen sehr oft gemacht wurde. Auf diese Weise kommt man eben nicht zum Ziele.

Am 21. Mai 1912 wurde nun von dem zweiten Röhrchen vom 23. April (mit Erdabk. + KNO_3-Ag.) auf Kieselgallerte mit Kalisalpeter mit und ohne Erdeauszug geimpft. Am 22. Mai waren auf beiden Platten Fäden herausgekrochen, die sich aber als in lauter kurze Stücke zerbrochen erwiesen. Am 30. Mai waren beide Schalen sehr schön, um die Impfstelle herum hatten sich die Oscillarien in Form kreisrunder tiefgraugrüner Flecke ausgebreitet. Sie bildeten keine langen Fäden, die durch ihre Schlingen und Biegungen nie eine so regelmäßige Ausbreitung erlaubt haben würden, sondern waren in kurze Stücke zerfallen, was wohl mit der größeren Dicke dieser Art gegenüber Oscill. IV zusammenhängt. Durch die größere Dicke wird der Widerstand beim Gleiten erhöht, dadurch das Abknicken der durch interkalares Wachtum sich verlängernden Fäden bewirkt und so die Ausbreitung verzögert, sowie das weite Kriechen einzelner langer Fäden verhindert. Für die angegebene Deutung der Zusammenhänge spricht die Erfahrung, daß mehrere verhältnismäßig dicke Arten sich im Gegensatz zu den dünnen übereinstimmend so verhielten.

Leider wurde durch diese Eigenheit auch die Reinkultur erschwert. Denn einzelne, sich im noch unbesiedelten Gebiete relativ schnell vorwärts schiebende Fäden streifen leichter die Bakterien ab als kurze dichtgelagerte Oscillarienstücke, zwischen denen durch Absterben von Zellen und wohl auch die Ausscheidung organischer Stoffe der Nährboden für das Bakterienwachstum vorbereitet wird. Dieser Umstand machte den Weg bis zur Erreichung der Reinkultur hier etwas länger.

Um nun zu den Kulturen auf Kieselgallerte mit Erdeabkochung und ohne solche vom 21. Mai zurückzukommen, so entwickelte sich die erstere etwas

üppiger. Die kreisförmige Kolonie war etwas dichter besiedelt und hatte trotzdem nach 9 Tagen einen größeren Durchmesser von fast 3 cm gegenüber etwa 2 cm ohne Erdeauszug. Diese Förderung durch die Humusstoffe war nicht bei allen Cyanophyceen auf Kieselgallerte zu bemerken. Da außerdem Bakterien und Pilze dadurch gefördert wurden, ward sie später als überflüssig fortgelassen.

Von nun an wird die Geschichte der Reinkultur von Oscillaria X etwas verwirrt, da vielfach hin- und herprobiert wurde, auch mehrere, teilweise nicht zum Ziele führende Impfreihen nebeneinander hergeführt wurden. Hier soll nur ganz kurz der Gang der schließlich erfolgreichen Kulturserie wiedergegeben werden.

Am 3. Juni 1912 wurde aus der Schale mit Kieselgallerte + Erdeauszug + KNO_3 vom 21. Mai auf die Oberfläche von Asparaginagar (Agar 2%, Asparagin 0,025%, $MgSO_4$ 0,01%, K_2HPO_4 0,01%) übertragen, der in der Petrischale erstarrt war. Am 8. Juni zeigten sich um die Impfstelle Bakterienmassen, aus denen sich aber die Oscillarien später befreiten. Am 21. Juni waren viele Fäden über die ganze Agarmasse ausgebreitet, die sie freilich nicht sehr dicht bedeckten. In der Mitte, wo geimpft worden war, Bakterien, sonst rein aussehend. Viel längere Fäden als auf den Kieselplatten. Diese Kultur ist am 22. Juli recht üppig, schön olivgrün, seidig, nach den Rändern der Schale hin sind die Fäden radiär angeordnet, eine Beobachtung, die bei dieser Oscillarie gerade beim Wachstum auf Asparaginagar wiederholt gemacht wurde.

Aus dieser Asparaginschale wurde am 21. Juni in ein Heydenagar-Schrägröhrchen übertragen, in dem am 3. Juli sich nur Fäden an der von Agar freien Glaswand befinden, wo sich Wassertröpfchen niedergeschlagen haben. Die Kultur ist noch nicht rein. Offenbar haben die Bakterien auf dem Agar Stoffwechselprodukte gebildet, gegen die die Oscillarien negativ chemotaktisch reagieren. Auch diese Beobachtung wurde in ähnlicher Form wiederholt gemacht. Nachdem am 15. und 22. Juli in derselben Weise aus einem Heyden-Röhrchen ins andere übertragen worden war, erwies sich die Kultur in dem letzten am 28. Juni als rein. Sie zeigte schön auseinanderstrahlende Fäden von graugrüner Farbe auf dem Agar; Bakterien waren nicht mehr zu sehen und blieben auch in der Folge aus. So war also auf einem etwas umständlicheren Wege auch *Oscillaria brevis* in Reinkultur gewonnen. Das Wachstum dieser Art auf Agar mit organischen Stoffen war freilich zunächst im allgemeinen nicht sehr günstig. Genügend Material für die Impfung größerer Versuchsserien wurde daher erst aus Flüssigkeitskulturen mit organischen Stoffen gewonnen. Darüber später.

c. *Nostoc spec.*

Wir kämen nun zu der dritten Cyanophyceenart, die noch größere Schwierigkeiten bereitete. Es war ein schön blaugrüner Nostoc mit frei kriechenden Fäden und wenig Gallertabscheidung. Er trat im Frühjahr 1911 in einer Kultur auf, die Erde und Gips in Leitungswasser enthielt.

Auch hier will ich nur die Reihe von Impfungen angeben, die sich von der schließlich erzielten Reinkultur rückwärts verfolgen läßt, wenn ich in meinen Protokollen stufenweise immer die Mutterkultur jeder folgenden aufsuche und alle nicht zum Ziele führenden, weit zahlreicheren Versuche fortlasse. Man wird gerade aus dieser Art der Darstellung ersehen, daß hier ein planmäßiges Vorgehen besonders erschwert war, weil das Kriechvermögen dieser Form gegenüber den Oscillarien geringer ist, Plattengüsse nicht zum Ziele führen und außerdem organische Stoffe besonders stark hemmen.

Nachdem der Nostoc im Frühjahr 1911 mehrmals in Erdabkochung mit Salpeter umgeimpft worden war, wurden am 7. Juli und hiervon am 17. Oktober Platten mit gewässertem KNO_3-Agar gegossen. Das Wachstum war darin sehr gut, auch waren fremde Algen und Pilze nicht mehr zugegen. Auf dem Agar bildete der Nostoc zahlreiche Wirbel und Schleifen, sodaß der Habitus bei Betrachtung mit bloßem Auge oder schwacher Vergrößerung dem der Oscillarien glich. Die sehr üppige Schale vom 17. Oktober 1911 zeigte am 8. Januar 1912 bei Betrachtung mit Leitz Obj. 4, Comp. Ok. 12 (Vergröß. 304) ganz wenig winzige Bakterienkolonien, dagegen zahlreiche Amöbenzysten. Manche Zellreihen waren

entfärbt und tot, andere in Dauerzellen zerfallen, die etwas größer und dickwandiger als die vegetativen sind.

Hiervon war am 23. November 1911 auf die Oberfläche von erstarrtem gew. KNO_3-Agar geimpft worden. Am 8. Januar 1912 waren die Fäden deutlich phototropisch annähernd gradlinig dem Fenster zugewachsen, was ich bei den Oscillarien nie bemerkt habe, die in gallertigen Nährböden gar keine Lichtreizbarkeit verraten, in Flüssigkeiten nur phototaktisch sich an der Fensterseite ansammeln. Der Phototropismus dieser Nostocart ist mir schon früher aufgefallen und wurde photographisch festgehalten[1]). Leider zeigte diese Schale mit Oberflächenimpfung ziemlich viel Bakterien und Amöben. Von einer verhältnismäßig reinen Stelle wurde am 8. Januar in ein Schrägröhrchen mit gewässertem KNO_3-Agar und daraus am 28. Februar in ein gleiches geimpft. Dieses sah auch mikroskopisch am 22. April rein aus und zeigte sehr gutes Wachstum. Durch die Zwischenstufe einer weiteren Oberflächenimpfung auf gew. KNO_3-Agar wurde am 21. Mai 1912: 1. auf Kieselgallerte mit KNO_3 und Nährsalzen und 2. auf ebensolche, die daneben noch Erdeauszug enthielt, geimpft. Am 22. Mai zeigte 1. schon ganz gute Ausbreitung, die bei 2. viel geringer war, hier waren nur einzelne Fäden aus dem Impfklümpchen herausgekrochen. Am 30. Mai war 1. sehr fein ausgebreitet, die Fäden lang, gesund und rein. 2. war viel dichter, weniger auseinandergekrochen, sonst ähnlich. Über eine weitere Salpeter-Kieselgallertschale wurde aus 1. am 27. Juni in ein Schrägröhrchen mit Erdeauszug + KNO_3-Agar übertragen. Hiermit war, wie eine Abimpfung vom 29. Juli auf 0,2prozentigen Heydenagar zeigte, die Reinkultur erreicht. Am 28. August war dieses Schrägröhrchen nicht sehr üppig, aber der Nostoc bildete viele, rein und gesund aussehende Fäden und Schleifen von schön blaugrüner Farbe. Das Wachstum war auf Agar mit organischen Stickstoffverbindungen immer langsam. Die Alge degenerierte dabei in Gegenwart von Bakterien leicht, sodaß Abimpfungen erfolglos blieben. So ging es mit zahlreichen, zwischen den angeführten unternommenen Kulturen. Es läßt sich deshalb auch nicht genau sagen, auf welcher Stufe die Bakterien ausgeblieben waren. Mir war natürlich das Hauptergebnis wichtiger. Nachdem einmal die Reinkultur erzielt war, konnte sie durch Kultur in Flüssigkeiten oder sicherer auf Heydenagar bequem rein erhalten und vermehrt werden.

Kulturen mit organischen Stoffen.

A. Organische Säuren.

Die organischen Säuren, die durchweg von Merck stammten, wurden zunächst auf einhalbnormale Kalilauge eingestellt, wozu Rosolsäure als Indikator diente, und dann mit Ammoniak möglichst wenig überneutralisiert. Die Neutralität wurde durch längeres Kochen zum Verjagen etwa überschüssigen Ammoniaks noch besonders gesichert und mit einem Indikator (Rosolsäure oder Nilblau)[2]) nachgeprüft. Für die Nährlösungen wurden diese Lösungen auf das Hundertfache verdünnt.

Oscillaria tenuis.

I. 9. Juli 1912:

1. $\frac{n}{200}$ essigsaures Ammon[3]),

2. $\frac{n}{200}$ weinsaures Ammon,

[1]) Vgl. E. Pringsheim, Die Reizbewegungen der Pflanzen. Berlin 1912, Abb. 67, S. 198.

[2]) Nilblau ist besonders geeignet. Es zeigt die Neutralität durch eine lila Zwischenfarbe an.

[3]) Abgekürzter Ausdruck, wohl ohne weiteres verständlich.

3. $\frac{n}{200}$ zitronensaures Ammon.

4. $\frac{n}{200}$ apfelsaures Ammon.

Überall 0,1% $MgSO_4$, 0,1% KH_2PO_4 und eine Spur $CaCO_3$.

Nur bei 3. trat gute Entwickelung ein. In 1. u. 2. starben die Oscillarien ab. In 4. wurde ein dünnes Netz gebildet. Auch nachdem die Flüssigkeiten auf das Fünffache verdünnt worden waren, um etwaige Schädigungen durch zu hohe Konzentration auszuschalten, trat in essigsaurem Ammon keine Entwickelung ein und blieb diese in weinsaurem und apfelsaurem Ammon sehr mäßig.

II. 28. Juli 1912:

1. Milchsäure, Calciumsalz, löslich, neutral, 0,05%.

2. Bernsteinsäure, Calciumsalz, schwer löslich, neutral, 0,05%.

3. Essigsäure, Ca-Salz, löslich, alkalisch gegen Lakmus, neutral gegen Curcuma, 0,05%.

4. Apfelsäure, Calciumbimalicum, löslich, sauer, mit $CaCO_3$ neutralisiert, 0,05%.

5. Buttersäure, 2 Tropfen auf 100 ccm, mit $CaCO_3$ neutralisiert.

6. Ohne organische Säure.

Dazu überall 0,1% Ammoniumnitrat, 0,02% Magnesiumsulfat, 0,02% primäres Kaliumphosphat in Leitungswasser. Alles neutral, starker Niederschlag. Impfung aus Heydenagarröhrchen vom 26. Juni.

Ergebnis am 12. August:

Überall lebend, aber kein Wachstum.

14. August:

Nun die Flüssigkeit klar abgegossen und mit doppelt destill. Wasser aufs Fünffache verdünnt. Nach dem Sterilisieren frisch beimpft.

21. August:

1. u. 2. Nicht ausgebreitet, aber gut gefärbt. 3. Ein Teil der Fäden herausgekrochen. 4.—6. Wie 1.

24. August:

1. Unverändert. 2. Impfklümpchen durch kleines Netz am Glase befestigt. 3. Mehr ausgebreitet. 4.—6. Wie 1.

28. August:

1. Unverändert. 2. Hübsches Netz. 3. Noch besser. 4.—6. Wie 1.

3. September:

1. Ohne Entwickelung, aber z. T. lebend. 2. Wenig ausgebreitet, aber etwas gewachsen. 3. Feines Netz, an allen Wänden verbreitet. 4. Wie 1., aber besser gefärbt. 5. Kleiner Klumpen, Oscill. wohl etwas vermehrt, aber wenig strahlend. 6. Ähnlich, aber mehr.

Man ersieht aus diesen Versuchen, daß organische Säuren auch bei neutraler Reaktion und geringer Konzentration die *Oscillaria tenuis* zum größten Teil hemmen oder doch nicht fördern. Nur für die Zitronensäure gilt das nicht. Sie verbessert die Entwickelung.

Oscillaria brevis.

I. 14. August 1912:

Versuch mit Calciumsalzen wie der obige mit *Osc. tenuis* vom selben Tage, d. h. je 50 ccm der verdünnten Lösungen beimpft aus Heydenagarröhre vom 27. Juli.

Ergebnis am 21. August:

Überall Fäden auseinandergekrochen, an der Fensterseite einen dünnen Schleier bildend.

24. August:

In allen Kölbchen die Oscillarien ganz fein auseinander gekrochen.

18. August:

1. Sehr gut, Netz und Haut. 2.—6. Ähnlich, etwas weniger.

3. September:

1.—3. Haut und am Glase in die Höhe gekrochen, am Boden wenig. 4—6. Ähnlich, etwas weniger.

Oscillaria brevis verträgt also die organischen Säuren besser als die vorbehandelte Art und wird durch Milchsäure in dieser Form etwas gefördert. Gleichzeitig wird dadurch gezeigt, daß die Lösungen nicht irgend eine für Oscillarien überhaupt ungünstige Beschaffenheit hatten. Das ist deshalb wertvoll, weil die mehr physikalischen Eigenschaften, wie Konzentration, Neutralität und dergleichen so stark auf die Blaualgen einwirken, daß sie den Einfluß der organischen Stoffe unter Umständen verdecken können. Das gilt natürlich besonders für diese erst künstlich neutral gemachten Substanzen, erschwerte aber besonders in den ersten Versuchen die Schlußfolgerungen überhaupt sehr. Leider ist hier auch noch kein Eisen zugefügt worden, wie das später immer geschah, doch dürfte in dem Leitungswasser, das Eisenbakterien führt, genug davon vorhanden gewesen sein.

II. 7. September 1912:

Die Lösungen wurden hergestellt, wie oben beschrieben, mit Ammoniak neutralisiert und mit Nilblau auf die Reaktion nachgeprüft. Auf diesen Versuch ist mehr als auf die früheren zu geben, weil bei seiner besonders vorsichtigen Anstellung schon die früheren Erfahrungen benutzt und auch zwei verschiedene Konzentrationen angewendet wurden.

	a.	b.
1. Essigsaures Ammon	n/200	n/1000
2. Weinsaures =	=	=
3. Apfelsaures =	=	=
4. Zitronensaures =	=	=
5. Oxalsaures =	=	=
6. Buttersaures =	=	=
7. Milchsaures =	=	=
8. Ohne Säure, mit NH_4MgPO_4.		

Überall 0,01% $MgSO_4$, 0,01% KH_2PO_4 und Spur $FeSO_4$ in doppelt destill. Wasser. *Oscillaria brevis* geimpft aus einer üppigen Flüssigkeitskultur mit Zucker vom 14. August 1912.

Ergebnis am 16. September:

1a. u. b. Tot. 2a. Gut strahlend. 2b. Gut gewachsen auf der Fensterseite. 3a. Etwas mehr strahlend als 2a. 3b. Gut, aber nicht ganz so wie 2b. 4a. Gut strahlend. 4b. Etwas mehr gewachsen. 5a. Sehr gut. 5b. Etwas weniger. 6a. u. b. Ausgebreitet, aber nicht viel gewachsen. 7a. u. b. Ähnlich, aber mehr, besonders bei b. 8. Gut, etwa wie 1b., die beste der anderen Kulturen.

22. September:

Überall Wachstum, außer bei Essigsäure, aber nirgends besser als ohne organische Säure. In Zitronensäure die Oscillarien recht gelblich, in Buttersäure bei der höheren Konzentration ganz hell, wohl krank.

1. Oktober:

1a. Sehr schön, lange Fäden, tief graugrün. 1b. Auch viel gewachsen, aber gelb. 3a. Wenig. 3b. Etwas mehr, gut am Rande. 4a. Ähnlich, gelblich, nicht gut weiter entwickelt. 4b. Ganz gelb, Entwickelung steht still. 5a. u. b. Ziemlich viel, besonders a., aber hell. 6a. u. b. Sehr wenig, ganz hell. 7a. Schlecht. 7b. Viel, aber gelb. 8. Ebenso. Alle weisen bei Prüfung mit Nilblau als Indikator schwach sauere Reaktion auf. Es wird also, falls überhaupt, weniger Säure verarbeitet, als dem verbrauchten Ammon entspricht.

Auch hier sieht man also, daß *Oscillaria brevis* die organischen Säuren, abgesehen von der Essigsäure und vielleicht der Buttersäure, bei großer Verdünnung recht gut verträgt, ohne durch sie aber im Wachstum merklich gefördert zu werden. Die höheren Konzentrationen, die doch noch sehr gering sind, erweisen sich fast überall schon als schädigend. Möglicherweise könnte freilich bei noch stärkerer Verdünnung eine günstigere Wirkung auftreten, doch ist die Hoffnung darauf wohl nicht groß, da dann die absolute Menge selbst bei größerem Flüssigkeitsvolumen zu gering würde.

Nostoc spec.

7. September 1912:

Der Versuch wurde genau so angesetzt wie der letztbeschriebene vom selben Tage mit *Oscillaria brevis*. Geimpft wurde aus einer Heydenagarröhre vom 29. Juli.

Ergebnis am 16. September:

1a. u. b. Tot. 2a. Strahlend mit phototropischer Richtung der Fäden. Diese aber am Ende entfärbt, 2b. Ähnlich, etwas besser. 3a. Klümpchen ohne Ausbreitung, aber gut gefärbt. 3b. Gut strahlend und phototropisch. 4a. u. b. Verschiedene nicht festgeheftete Klümpchen von guter Farbe. 5a. u. b. Etwas ausgebreitet. 6a. u. b. Ebenso. 7a. Tot. 7b. u. 8. Etwas strahlend, phototropisch, gut.

22. September:

Bei den noch lebenden überall Wachstum, aber nirgends besser als ohne Säure.

28. September:

Alle einander ähnlich, die Kulturen mit Säuren meist schlechter als ohne diese, nur 7b ebensogut wie 8.

22. Oktober:

2a. Ganz gut, teils nestartig verflochtene, teils phototropische Fäden. 2b. Ebenfalls leidlich. 3a. Klümpchen. 3b. Viel fein verteilte Fäden am Boden. 4a. u. b. Gesund aussehend, Klümpchen und Fäden. 5a. Gut, schön blaugrün, viel Fäden am Boden. 5b. Sehr wenig. 6a. Wenig, schlecht. 6b. Viele, aber nicht gut aussehende Fäden. 7b. Gelblich, nicht gut. 8. Viel, aber gelblich.

Es bestätigt sich also auch an dem Nostoc, daß die organischen Säuren bestenfalls das Wachstum nicht hemmen, vielfach aber, und besonders bei den höheren der verwendeten Konzentrationen, schädlich sind. Dies gilt z. B. für Essigsäure und Milchsäure, während Apfelsäure ziemlich indifferent ist.

B. Höhere Alkohole.

Das Glyzerin wurde vor dem Abwägen im Exsikkator getrocknet, die anderen Substanzen im kristallisierten Zustande von Merck bezogen.

Nachdem ein Vorversuch mit bakterienhaltigen Kulturen von Oscillaria I die Unschädlichkeit von Mannit in der Konzentration von 0,05, 0,1 und 0,05% neben KNO_3 als Stickstoffquelle gezeigt hatte, wurde eine Kulturreihe mit allen drei in Reinkultur gewonnenen Arten angesetzt;

6. September 1912:

	a.	b.
1. Glyzerin	0,2%	0,05%
2. Erythrit	=	=
3. Mannit	=	=
4. Sorbit	=	=
5. Ohne Alkohol.		

Dazu überall kleine Menge NH_4MgPO_4, Spur $CaSO_4$ und $Fe_2(PO_4)_2$, sowie 0,01% K_2SO_4 zu je 25 ccm in dopp. dest. Wasser, 3 mal im Dampftopf sterilisiert.

Oscill. tenuis und *brevis* geimpft aus üppigen Zuckerkulturen vom 14. August, *Nostoc* aus Heydenagarröhre vom 29. Juli 1912. Impfung um 2h.

Um 5h bei den Oscillarien schon Auseinanderkriechen deutlich, und zwar: *Oscillaria tenuis*: 1a. Ganz wenig strahlend. 1b. Etwas mehr. 2a. u. b. 3a. u. b. Völlig auseinandergekrochen. 4a. Schön strahlig ausgebreitet. 4b. u. 5. wie 1a.

Oscillaria brevis: 1a. u. b. Schön strahlend. 2a. Mehr auseinander. 2b. Ganz weit auseinandergekrochen. 3a. bis 5. Schön weit strahlend.

Ergebnis am 16. September:

Oscillaria tenuis: 1a. Wenig strahlend, aber sehr dicht, gut vermehrt. 1b. Ganz ausgebreitet, Netz mit Strängen. 2a. u. b. Ganz feine ausgespannte Netze, nicht sehr viel. 3a. u. b., 4a. Verhältnismäßig üppige ausgespannte Netze. 4b. u. 5. Weniger ausgebreitet, aber gut.

Oscillaria brevis: 1a. bis 2b. Sehr gut ausgebreitet, hübsche Haut. Erythrit etwas besser als Glyzerin. 3a. bis 5. Noch etwas besser.

Im ganzen sind die Unterschiede hier sehr gering. Glyzerin und Erythrit scheinen bei 0,2% etwas zu hemmen, die übrigen ohne Wirkung.

Nostoc spec. zeigt noch keine Veränderung des gut gefärbten Impfklümpchens.

22. September:

Oscillaria tenuis: 1a. Weiter wie früher. 1b. Zusammengekrochen[1]). 2a. und besonders b. enthalten sehr hübsche Netze. 3a., 3b. u. 4a. Sehr gut, üppig, schön blaugrün. 4b. u. 5. Gut, aber nicht wie die besten, Klümpchen und Netz.

Oscillaria brevis: Alle Kulturen gut gewachsen, sehr üppig. Farbe nicht überall ganz gleich. 1a. u. b., 2b. u. 3b. Schön graugrün. 2a., 3a., 4a. u. b., sowie 5. Mehr gelblich, besonders 4b. Was diese Farbendifferenzen bedeuten, läßt sich schwer sagen[2]). Vielleicht war nur die Menge des Ammoniummagnesiumphosphates nicht ganz gleich, sodaß es in manchen Kulturen bei der üppigen Entwickelung schon an Stickstoff zu mangeln begann.

Nostoc spec.: Die meisten Kulturen unverändert, d. h. das Impfklümpchen noch zusammengeballt. Nur 3a. u. b. strahlend und 5. phototropisch gerichtete Stränge aufweisend. Diese Kultur ohne Alkohol ist die beste.

22. Oktober:

Oscillaria brevis: 1a. u. b. Wenig gewachsen, aber gut gefärbtes Häutchen an der Oberfläche. 2a. Viel mehr, Klümpchen und Netz an der Lichtseite. 2b. Wenig, aber gut gefärbt. Klümpchen am Boden, Rand an der Lichtseite. 3a. Ziemlich viel, aber gelblich. 3b. Tot. 4a. Viel an der Lichtseite, aber gelblich. 4b. Weniger als bei 4a., etwa wie 1a. 5. Etwa wie 2a., aber etwas gelblicher.

Nostoc spec.: 1a. Gut strahlend. 1b. Fäden am Boden. Nester bildend. 2a. Ähnlich, aber mehr. 2b. Noch mehr, 3a. Sehr gut, viel Algen am Rande.

---

[1]) Das kommt zuweilen aus unbekannten Ursachen vor, ohne eine ungünstige Bedeutung zu haben.

[2]) Eine Prüfung der Reaktion der Lösungen mit Nilblau ergab für Glyzerin und Mannit schwach saure, für alle anderen basische Reaktion.

Glas gleichmäßig mit phototropischen Fäden bedeckt. Beginnende Verfärbung. 3b. Ähnlich, aber mehr klumpig. 4a. Viele Klümpchen, durch strahlende Fäden festgeheftet. 4b. Kleine Nester und Stränge, gut. 5. Ähnlich, aber schlechter als 3a.

C. Kohlehydrate.

Nachdem auch hier Vorversuche mit bakterienhaltigen Kulturen die Unschädlichkeit des Traubenzuckers und einiger anderer in genügend verdünnter Lösung gezeigt hatten, wurden zunächst einige Monosen in verschiedenen Konzentrationen erprobt.

14. August 1912:

Oscillaria tenuis, geimpft aus Heydenagarröhrchen vom 28. Mai in:

	a.	b.	c.
1. Glukose	0,2	0,1	0,05%
2. Fruktose	=	=	=
3. Galaktose	=	=	=
4. Arabinose	=	=	=
5. Ohne Zucker.			

Dazu überall kleine Menge NH_4MgPO_4, Spur $CaSO_4$ und $Fe_2(PO_4)_2$, sowie 0,1% K_2SO_4 in doppelt destilliertem Wasser. Sterilisiert durch zweimaliges Erhitzen im Dampftopf.

Ergebnis am 21. August:

1a. bis c. Feines Netz am Boden, wenig vermehrt. 2a. bis c. Wenig gewachsen. 3a. bis c. Hübsches Netz, aber noch nicht viel. 4a. Ganz wenig strahlend. 4b. u. c. Feines Netz am Boden. 5. Ganz geringe Menge, aber fein ausgebreitet.

28. August:

1a. bis c. Gut gewachsen, Netz, das teilweise klumpig geballt ist. 2a. Wenig ausgebreitet, nicht gut aussehend. 2b. Wie 1a. bis c. 2c. Etwas weniger, so wie ohne Zucker. 3a. Gutes Netz. 3b. Mehr. 3c. Weniger, so wie ohne Zucker. 4a. Wenig ausgebreitet, nicht gut aussehend. 4b. Nicht viel besser, schlechter als ohne Zucker. 4c. Schlechte Ausbreitung, aber wohl leidlich vermehrt. 5. Hübsches Netz, aber weniger als die besten.

3. September:

1a. u. b. Klumpen. 1c. Netz, überall gut gewachsen. 2a. Fast nichts. 2b. u. c. Gut, Netz und Schleier. 3a. bis c. Sehr gut. 4a. Weniger als ohne Zucker. 4b. Ebenso wie ohne Zucker. 4c. Klumpen. 5. Feines Netz und Schleier.

Es wirkt also Glukose und besonders Galaktose günstig, Fruktose und Arabinose in der höchsten Konzentration schädlich, in den geringeren garnicht. Jedenfalls läßt sich hier unter gewissen Umständen eine sichere Förderung durch organische Stoffe beobachten.

14. August 1912:

Oscillaria brevis, genau derselbe Versuch, geimpft aus Heydenagarröhrchen vom 12. August, das mit viel Material beschickt worden war.

Ergebnis am 21. August:

1a. Wenig strahlend. 1b. u. c. Mehr auseinander, aber noch nicht ganz. 2a. bis c. Entsprechend wie 1. 3a. An der Fensterseite strahlig ausgebreitet. 4a bis c. Ähnlich wie 3., aber weniger strahlend. 5. Ganz wenig Fäden herausgekrochen.

28. August:

1a. Rand über dem Meniskus von viel Fäden besiedelt. 1b. u. c. Fäden fein ausgebreitet. 2a. Wenig strahlend. 2b. u. c. Schönes Netz. 3a. u. b. Sehr hübsch, wie 1a. 3c. Ähnlich, noch besser, Rand und Haut. 4a. bis c. Sehr gut, etwa wie 3c. 5. Gut, Rand und Netz.

3. September:

1a. Etwas zurück gegenüber b. u. c, die recht üppig sind. 2a. Schön strahlend, aber b. und besonders c. viel üppiger, noch besser als 1b. u. c. 3. Alle drei Kulturen sehr üppig. 4. Alle gut, besonders c. sehr üppig. 5. Etwa wie 1a., also schlechter als die besten.

Bei *Oscillaria brevis* ist demnach die Förderung durch Zucker bei niederen Konzentrationen noch stärker als bei *O. tenuis*.

5. September 1912:

Nostoc spec. Derselbe Versuch, geimpft aus Heydenagarröhre vom 29. Juli.

Ergebnis am 16. September:

Alle fast garnicht ausgebreitet, bis auf 1b., das die für diese Art bezeichnenden phototropischen Stränge zeigt und 3c. sowie 4c., die ganz wenig strahlen.

22. September:

1a. Nicht ausgebreitet. 1b. Gut. 1c. Ganz wenig strahlend. 2a. u. b. Unverändert. 2c. Etwas strahlend. 3a. Ganz hell, wohl tot. 3b. u. c. Wenig strahlend. 4a. bis c. In wachsendem Maße ausgebreitet, sodaß 4c. der Kultur 1b. gleicht. 5. Garnicht ausgebreitet.

28. September:

1a. Unverändert. 1b. Gut strahlend. 1c. Fäden weit gekrochen, gut. 2a. u. b. Unverändert. 2c. Wenig strahlend. 3a. ? 3b. Wie 1b. 3c. Wie 1c. 4a. u. b. Wie 1c. 4c. Viel Fäden am Boden. 5. Einige Fäden herausgekrochen.

18. Oktober:

1b. Klümpchen und wenig Fäden am Boden. 1c. Klümpchen und ziemlich viel phototropische Fäden. 2a. Zahlreiche winzige, schlecht aussehende Kügelchen. 2b. Eine kleine Kugel. 2c. Wie 1c. 3a. u. b. Unverändert. 3c. Rings am Glase sehr viel gute, phototropische Fäden, teilweise spinnwebig verflochten. 4a. Ebenso. 4b. Ähnlich, dazu an der Fensterseite dichter Belag, gut. 4c. Ähnlich, aber weniger. 5. Einige Kugeln, durch Fäden befestigt.

Der Nostoc wird also durch Zucker, wie überhaupt durch organische Stoffe, wenig gefördert, nur Galaktose und Arabinose sind in geringer Konzentration günstig, was sich aber erst nach längerer Zeit bemerkbar macht.

Wir kommen nun zu den Di- und Polysacchariden, aus denen natürlich auch wieder nur eine kleine Auswahl getroffen werden konnte. Da sie sich aber größtenteils ziemlich übereinstimmend verhielten, sind auch bei den nicht berücksichtigten keine besonderen Überraschungen zu erwarten.

7. September 1912:

Oscillaria tenuis, geimpft aus üppiger Fruktosekultur vom 14. August in

	a.	b.
1. Saccharose	0,02	0,05%
2. Milchzucker	=	=
3. Maltose	=	=
4. Inulin	=	=

	a.	b.
5. Dextrin	0,2	0,05%
6. Glykogen	=	=
7. Ohne Zucker.		

Alle verwendeten Kohlehydrate waren die reinsten Präparate von Merck. Das ist von Bedeutung, da z. B. ein Milchzucker unbekannter Herkunft sich in wiederholten Versuchen als recht giftig erwiesen hatte. Alle Lösungen klar bis auf das Glykogen, das stark opalisierte. Überall kam eine kleine Menge NH_4MgPO_4, 0,01% K_2SO_4, sowie eine Spur von $CaSO_4$ und $Fe_2(PO_4)_2$ hinzu. Dopp. destill. Wasser.

Ergebnis am 16. September:

1a. u. b., 2a. u. b. Schöner, ausgespannter Schleier. 3a. u. b. Wenig Wachstum am Boden, etwas weniger als ohne Zucker. 4a. Noch schlechter. 4b. Gut, fast wie 1. 5a. Wie 4a. 5b. Etwas besser. 6a. u. b. Ohne Ausbreitung am Boden. 7. Etwas ausgebreitet und gewachsen.

22. September:

1a., b., 2a. u. b. Hübsche, ausgespannte Netze, besonders 2b. gut. 3a. u. b. Etwas schlechter. 4a. Klümpchen am Grunde mit wenig Strahlung. 4b. Schönes Netz. 5a. Wie 4a. 5b. Am Glase seitlich festgeheftet, wenig strahlend. 6a. u. b. Wie 4a. 7. Klümpchen seitlich am Glase festgeheftet, nicht so gut wie die besten Kulturen.

1. Oktober:

1a., 3b., 4a., 5a., 6a. u. b. Sehr mäßig, die anderen gut, ob 1. besser als 7. ist fraglich, am besten 2a. u. b., 3a. u. 4b.

Nun etwas Flüssigkeit aus den Kulturen mit 0,05% Kohlehydrat, weil diese im allgemeinen besser sind, mit Fehlingscher Lösung gekocht, um zu prüfen, ob hydrolysierende Enzyme abgeschieden worden sind. Bei Milchzucker und Maltose, die schon an sich reduzieren, ist die Probe nicht anwendbar. Von den übrigen Lösungen gibt nur die mit Dextrin, das ja stets eine Spur Zucker enthält, eine minimale Reduktion, die übrigen gar keine. Monosen sind also nicht gebildet worden.

Man darf wohl annehmen, daß die Di- und Polysaccharide überhaupt nicht zur Ernährung verwendet werden.

7. September 1912:

Oscillaria brevis: Genau derselbe Versuch, geimpft aus üppiger Zuckerkultur vom 14. August.

Ergebnis am 16. September:

Überall gut gewachsen, Unterschiede gering bis auf 6a., wo nur wenig am Boden. Auch 6b. gegen die übrigen zurück, die einschließlich die zuckerfreie Kultur, Netz am Glase und dicke Ansammlung am Meniskus zeigen.

22. September:

1a. bis 5b. Etwa gleich gut. 6a. u. b. Auch ganz hübsch, wenngleich schlechter. 7. Etwas zurück gegen die besten Kulturen.

1. Oktober:

Alle Kulturen gut. 6a., das sich später entwickelt hat, noch grün, alle anderen gelb. Sonst keine Unterschiede zu bemerken. Prüfung mit Fehling'scher Lösung ergibt wieder negatives Resultat.

Diese Art scheint also gleichfalls die betreffenden Kohlehydrate nicht zu verarbeiten, ohne daß sie aber in den verwendeten Konzentrationen schädlich wären.

7. September 1912:

Nostoc spec. Der gleiche Versuch, geimpft aus Heydenagarröhrchen vom 29. Juli.

Ergebnis am 16. September:

Überall Fäden, nur wenig herausgekrochen, am Boden.

22. September:

1a. Klümpchen ganz wenig strahlend. 1b. Fäden teilweise herausgekrochen, neue Nester bildend. 2a. Wie 1a. 2b. Wie 1b., aber wenig gewachsen. 3a. Klümpchen nicht festgeheftet. 3b. Beste Kultur, Klümpchen durch Fäden an der seitlichen Glaswand festgeklebt. Beginnendes Netz. 4a. u. b. Wie 1a. 5a. Wie 3a. 5b. Wie 3b., aber weniger. 6a. Ähnlich wie 1a. 6b. Ebenso, etwas besser. 7. Klümpchen wenig strahlend, einige herausgekrochene Fäden netzartig angeordnet.

1. Oktober:

Meist einzelne Fäden an den Glaswänden. Bei 3a., 4a. u. b., sowie 6a. Algen nur am Boden. 2a. Gut, um das Impfklümpchen Netz. 3b. Sehr gut. 5b. u. 6b. Auch recht gut, besser als 7.

22. Oktober:

Auch da, wo anfangs keine Entwickelung zu bemerken war, jetzt überall zahlreiche Fäden am Glase, außer bei 6a; 3b. u. 5b. gelblich, die anderen hübsch blaugrün. 7. ist entschieden zurück gegenüber 1b., 3b., 5b. u. 6b.

Die recht langsame Entwickelung zeigt also erst nach längerer Zeit eine deutliche Förderung durch Saccharose, Maltose, Dextrin und Glykogen, falls diese in sehr geringer Konzentration geboten werden. Die Verbesserung des Wachstums ist aber immer gering.

D. Organische Stickstoffverbindungen.

Auch hier gingen den systematisch angelegten Kulturreihen mit Reinkulturen einige Vorversuche mit noch bakterienhaltigem Material voraus. Sie zeigten, daß die verschiedensten Arten von Blaualgen Eiweißstoffe, wie Albumin und Pepton, sowie Aminosäuren, wie Asparagin, Leucin, Glycocoll usw. in nicht zu hoher Konzentration gut vertragen und sich unter Umständen auch dann noch zu vermehren vermögen, wenn eine schwache Fäulnis eingesetzt hat. Da aber diese Versuche recht verschiedenartig ausfielen, offenbar je nach der Art der zur Entwickelung kommenden Bakterien, soll auf ihre Wiedergabe im einzelnen verzichtet werden, um so mehr, als sie ja über die Art der wirklich assimilierten Nährstoffe nichts aussagen können. Wir wollen zunächst die Experimente mit den eigentlichen Eiweißstoffen betrachten, den sogenannten nativen Albuminen, die also unter den Versuchsbedingungen durch die Erhitzung beim Sterilisieren koaguliert worden waren. Zwei der benutzten Präparate, nämlich Tropon und Nährstoff Heyden, enthalten freilich auch nicht mehr koagulierbare Albumosen.

26. Juli 1912.

Oscillaria tenuis, geimpft aus Heydenagarröhre in Kölbchen, die neben 0,02% K_2SO_4, einer kleinen Menge NH_4MgPO_4 und einer Spur $CaSO_4$ und $Fe_2(PO_4)_2$ in dopp. destill. Wasser je eine kleine Menge enthalten von:

1. Tropon.
2. Heydennährstoff.
3. Serum siccum aus Pferdeblut von Grübler.
4. Albumin aus Eiweiß von Merck.

5. Kasein puriss. von Merck.
6. Ohne Eiweiß.

Sterilisiert im Autoclav.

Schon nach 4 Stunden (1—5 Uhr) teilweise auseinandergekrochen, und zwar: 1. Wie es scheint, Fäden chemotaktisch um Troponklümpchen angeordnet. 2. Schwache Strahlung. 3. Ganz auseinandergekrochen. 4., 5. u. 6. Mehr als 2, aber weniger als 3. gekrochen.

Ergebnis am 28. Juli.

1., 2. u. 4. Wenig ausgebreitet. 3. Schön auseinandergekrochen. 5. Ganz ausgebreitet. 6. Gutes Netz.

1. August:

1. Klümpchen und Netz. 2. Nur Klümpchen. 3. Schönes Netz am Boden, gut. 4. Wie 1. 5. Noch besser als 3. 6. Wenig ausgebreitet, aber gut aussehend.

12. August:

1. Dauernd zusammengeballt, aber vermehrt. 2. Viele Klümpchen um die Troponstücke. 3. wie 1., 4. u. 5. Klümpchen durch strahlende Fäden am Glase festgeheftet. 6. Mehr ausgebreitet als die anderen, aber nicht sehr.

21. August:

Überall Klümpchen, außerdem bei 4. kräftiger, tiefblaugrüner Rand. 6. Ist gegen die anderen zurück, offenbar aus Stickstoffmangel, da die Fäden teilweise gelb werden, sich aber auf erneuten Zusatz von etwas Ammoniummagnesiumphosphat wieder gut färben und weiter entwickeln.

In den übrigen Kulturen bilden sich aus einzelnen isolierten Fäden am Boden der Gefäße weitere Klümpchen, die wieder kugelige Gestalt annehmen, sodaß am

26. September

in 1., 2., 3. und 5. mehrere runde, schwarzgrüne Klümpchen, in 4. ein gut gefärbter dicker Klumpen, der mit Strängen festgeheftet ist, sich befindet. In 6. üppige Haut, deren Masse mit der der anderen Kulturen durch bloße Schätzung nicht verglichen werden kann.

Obgleich bei dem Zusatz des Ammonsalzes die Eignung der Eiweißstoffe als Stickstoffquellen nicht von vornherein ganz klar ersichtlich ist, spricht die üppige, langandauernde Entwickelung gegenüber dem allmählich eintretenden Stillstand und der Entfärbung ohne organischen Stickstoff, doch für ihre Ausnutzung. Die gute Ernährung auf Heidenagar deutete ja auch schon darauf hin. Die Unterschiede in der Wirkung der verschiedenen Eiweißpräparate sind gering. In allen haben die Oscillarien auffallenderweise die Neigung, sich zusammenzuballen oder garnicht erst auseinanderzukriechen, ohne daß diese Erscheinung, wie sonst vielfach, auf eine für das Wohlbefinden ungünstige Zusammensetzung der Lösung schließen ließe, da die Vermehrung offenbar recht lebhaft ist. Dasselbe Verhalten habe ich noch in Erbsenwasser, und wie man sehen wird, auch in Peptonlösungen beobachtet. Es ist besonders für diese eine von den untersuchten Arten bezeichnend, kann aber auch in konzentrierteren Lösungen anderer Stoffe auftreten.

Durch Versetzen mit dem Indikator Nilblau wurde schließlich noch festgestellt, daß die eiweishaltigen Kulturen alle schwach alkalisch waren, die eiweißfreie aber neutral oder schwach sauer.

2. August 1912:

Oscillaria brevis, geimpft aus Heydenagarröhre vom 15. Juli in Kölbchen des gleichen Inhalts wie im vorigen Versuche. Sehr bald überall gute Ausbreitung.

Ergebnis am 12. August:

1. u. 2. Rand auf der Fensterseite. 3. Fäden gelblich, am Boden. 4. Feines Netz auf allen Wänden. 5. Nicht sehr reichliche Fäden am Boden. 6. Weniger als 1. u. 2., Fäden hauptsächlich auf der Fensterseite.

21. August:

Überall Wachstum, in 1., 2. u. 6. am meisten, in 5. am wenigsten, in 3. Oscillarien gelblich.

Es wurde nun aus diesen Kulturen wiederholt abgeimpft, weil hier das erste reine Material in genügender Menge vorlag. Deshalb ließ sich die Entwickelung in den einzelnen Kölbchen nicht mehr gut vergleichen. Jedenfalls aber wurden alle, außer 3., auch 5. allmählich sehr üppig, nur 6. zeigt am 24. August die ersten Spuren der Verfärbung. Am 28. August war 6. ganz gelb, alle anderen außer 3 schön tief graugrün.

Bei *Oscillaria brevis* sprechen also dieselben Anzeichen für die Verwertung der Eiweißstoffe als Stickstoffquellen wie bei *O. tenuis*. Nur sind die Unterschiede etwas größer. Warum gerade Serumalbumin nicht geeignet war, vermag ich nicht zu sagen. Soviel aber ist sicher, daß sich mit manchen Eiweißstoffen, besonders mit Albumosen, von Oscillarien sehr üppige Reinkulturen erzielen lassen, die an andauerndem kräftigem Wachstum die rein autotrophen Kulturen unter Umständen hinter sich lassen. Ob diese Überlegenheit auch gegenüber Nährlösungen mit einer größeren Menge anorganisch gebundenen Stickstoffs gelten würde, muß freilich fraglich bleiben.

30. August 1912:

Nostoc spec., geimpft aus Heydenagarröhre vom 29. Juli in Lösungen, die denen der beiden letzten Versuche entsprachen, nur daß noch Legumin Merck hinzukam. Die Kölbchen enthielten also:

1. Tropon,
2. Nährstoff Heyden,
3. Serum aus Pferdeblut von Grübler,
4. Albumin aus Eiweiß von Merck,
5. Caseïn purissimum, " "
6. Legumin Merck,
7. Keinen Eiweißstoff. Daneben die Salze wie oben.

Ergebnis am 4. September:

Nur bei 3. etwas strahlend.

6. September:

1. Gut aussehend. Von verschiedenen Punkten aus etwas strahlend. 2. Dickes Klümpchen ohne Strahlung. 3. u. 4. Ziemlich viel Fäden herausgekrochen. 5. Impfstückchen gelblich. 6. Wie 2. 7. Sehr gut.

22. September:

Nur 7. wirklich gut. 1., 3. u. 4. Leidlich, viel Fäden am Boden. 1. u. 6. Tiefblaugrüner Klex. 5. Tot. 2. Wie oben.

3. Oktober:

1. Sehr gut, viel Fäden an der Fensterseite, phototropisch schräg nach oben strahlend. 2. Noch wie am 6. September angeordnet, aber viel mehr. 3. Fäden verteilt am Boden, meist entfärbt. 4. Sehr üppig, dicker wurstartiger Klumpen, von da Fäden den ganzen Boden überziehend. 5. —. 6. Runder, schwarzgrüner Ball, nicht sehr viel. 7. Gut, Netz und phototropische Fäden.

23. Oktober:

1. Sehr gut, an der Lichtseite dicke, ausgebreitete Masse, hoch herauskriechend. 2. Klümpchen und Netz am Boden, gut. 3. Tot. 4. Dicker Klex

und Ausbreitung, teilweise tot. 5. Sehr wenig, nicht entwickelt, aber noch grünlich. 6. Gelblich grün, Rand über dem Meniskus und Bodenwachstum. 7. Unverändert, gelblich.

Das Aussehen der Kulturen hat sich also z. T. schließlich noch geändert. Bei dem Nostoc dauert es immer einige Zeit, ehe die Wirkung der einzelnen Stoffe klar hervortritt. Nach einer Art Latenzperiode setzt dann oft noch überraschend gutes Wachstum ein. Während von den Eiweißstoffen Tropon und Albumin sehr gut ausgenutzt werden, was aus der Überlegenheit der betreffenden Kulturen gegenüber der eiweißfreien hervorgeht, wirkt Serumalbumin und Kasein hier schädlich. Nährstoff Heyden und Legumin verzögern die Ausbreitung sehr, scheinen sonst aber unschädlich zu sein.

Die Wirkung der verschiedenen Präparate auf die kultivierten Cyanophyceen, außer *Oscillaria breris*, ist demnach sehr ungleich. Da ihre Zusammensetzung nicht bekannt ist, auch schädliche Beimengungen darin enthalten sein können[1]), kann auf die Ergebnisse im einzelnen, soweit sie negativer Natur sind, nicht viel gegeben werden. Die Hauptsache ist, daß es Eiweißstoffe gibt, die ertragen oder selbst verarbeitet werden. Daneben ist die hemmende Wirkung auf die Ausbreitung bei *Oscillaria tenuis* und *Nostoc spec.* bemerkenswert.

Die zweite Gruppe von Versuchen umfaßt einige nicht koagulierbare Eiweißabbauprodukte, nämlich Pepton und Aminosäuren, sowie Amide. Hier wurde nun kein Stickstoff nebenher gegeben und auch durch recht vorsichtige Sterilisation, in Gestalt dreimaliger kurzer Erhitzung im Dampftopf, eine etwaige Zersetzung durch höhere Temperatur vermieden. Es konnte daher eine Vermehrung nur auf Grund der Verwendung organisch gebundenen Stickstoffs stattfinden. Die verschiedenen Verbindungen wurden wegen ihrer Leichtlöslichkeit in zwei Konzentrationen verwendet.

24. August 1912:

Oscillaria tenuis aus Salpeteragarröhrchen vom 9. Juli geimpft in Lösungen mit:

	a.	b.
1. Pepton Witte	0,05%	0,01%
2. Leucin synthetisch Kahlbaum	=	=
3. Glycocoll puriss. Grübler	=	=
4. Asparagin Merck	=	=
5. Acetamid =	=	=
6. KNO_3 0,1%,		

sowie überall 0,005% $MgSO_4$, 0,005% K_2HPO_4, Spur $CaSO_4$ und $Fe_2(PO_4)_2$ in doppelt destilliertem Wasser. Sterilisiert durch dreimaliges Erhitzen im Dampftopf.

Ergebnis am 28. August:

1 a. Wenig ausgebreitet, nicht fest haftend. 1 b. Gut ausgebreitet. 1 c. Garnicht ausgebreitet. 2 a. u. b. Fast garnicht ausgebreitet. 2 c. Gutes Netz am Boden. 3 a. bis c. Wenig ausgebreitet. 4 a. u. b. Gut gewachsen und ausgebreitet. 4 c. u. 5 a. bis c. Fast

---

[1]) Vgl. Bengt Lidforss, Reizbewegungen der Pollenschläuche, Zeitschrift für Botanik, Bd. I, 1909, S. 461.

garnicht ausgebreitet. 6. Strahlig bis netzig. In keiner Kultur die Impfklümpchen ganz verteilt.

1. September:

1a. Noch Klümpchen, daneben zarter Schleier. 1b. Schönes Netz. 1c. Nur Klümpchen. 2a. Klümpchen dünn und gelblich, Netz. 2b. Klumpen blaugrün, ganz wenig strahlend. 2c. Schönes Netz. 3a. Klümpchen und dünnes Netz, gut. 3b. Schöner Schleier. 3c. Beginnender Schleier, ziemlich wenig, aber gut gefärbt. 4a. Gutes, wenn auch feines Netz, 4b. u. c., 5a. Gut aussehend, wenn auch wenig haftend. 5b. Ganz wenig strahlend. 5c. Wenig ausgebreitetes Netz. 6. Gut strahlend, noch nicht ganz ausgebreitet.

16. September:

1a. Schön strahlend, in der Mitte noch Klümpchen. 1b. Sehr üppiges Netz mit Strängen. 1c. Wie 1a. 2a. Ganz feines, gelbliches Netz. 2b. Klümpchen blaugrün, strahlend. 2c. Leidlich gute Haut, laubgrün. 3a. Ganz fein verteilte kurze Fadenstücke 3b. Dünne gelbliche Haut 3c. Feiner ausgespannter Schleier mit Strängen, nicht viel gewachsen und ganz hell. 4a. u. b. Gut gefärbtes, schönes Netz und Haut. 4c. Oscillarien an einer Seite am Meniskus, dicht, gut gefärbt. 5b. bis c. Ganz fein verteilte, helle Fadenbruchstücke. 6. Gut gefärbter, alle Wände und die Oberfläche bedeckender dünner Schleier, weniger gewachsen als in 1b., 4a. u. 4b.

1. Oktober:

1a. u. b. Üppiger Schleier, Haut usw. 1c. Etwas weniger. 2a. Unverändert, schlecht. 2b. u. c. Nicht sehr viel gewachsen, zusammengeballt. 3a. bis c. Unverändert, schlecht. 4a. u. b. Dicke Massen. sehr gut. 4c. Unverändert, gut. 5a. bis c. Unverändert schlecht. 6. Gut gefärbt, überall fein verteilt, weniger Oscillarien als in den guten Pepton- und Asparaginkulturen.

Die Ergebnisse sind also, wie man sieht, sehr ungleichartig. Während Pepton und Asparagin gutes Wachstum ergeben, besseres sogar als Kalisalpeter, sind Leucin, Glycocoll und Acetamid nicht geeignet als Stickstoffquellen. Daß dieser Grund und nicht eine Giftwirkung vorliegt, schließe ich erstens daraus, daß die Kulturen so aussahen wie bei Stückstoffmangel und zweitens aus dem Umstand, daß die niederen Konzentrationen genau dasselbe Bild ergaben wie die höheren. Nur bei Leucin ist das letztere nicht der Fall. Dieses scheint direkt schädlich zu sein. Die höchste verwendete Konzentration von 0.05% ist bei den ersten beiden jedenfalls nicht zu hoch, vielleicht erzielt sie noch nicht optimale Entwickelung. Die niedrigste Konzentration von 0,01% bewirkt, daß die anfangs sehr guten Kulturen schließlich etwas zurückbleiben.

21. August 1912:

Oscillaria brevis. Genau derselbe Versuch, geimpft aus Troponkultur vom 2. August.

Ergebnis am 24. August:

Bei 4a. nur einzelne kurze Fadenstücke herausgekrochen, sonst überall schon zum feinen Netz angeordnet.

28. August:

In allen Kölbchen völlig ausgebreitet.

1. September:

Überall gutes Netz, kaum Unterschiede zwischen den Kulturen.

16. September:

1a. bis c. Gleichmäßig sehr gut, Netz und Haut. 2a. Viel weniger gewachsen, wenn auch nicht schlecht vermehrt. Fäden kurz, hell. 2b. An der Lichtseite gut gewachsen. (Leider durch Rosahefe infiziert, die aber nicht zu stören scheint.) 2a. Sehr wenig feine kurze Fäden ganz verteilt. 3a. Üppig an der Fensterseite. 3b. Wie 2c. 3c. Wenig gewachsen. 4a. Nicht viel. 4b. Sehr

schön gefärbt, üppig. 4c. Viel weniger. 5a. bis b. Nicht viel. 6. Gut, aber nicht so viel wie in 4b.

1. Oktober:

1a. u. b., 3a., 4b. u 6. Gut, besonders 4b. besser als 6. Alle übrigen verfärbt, gelblich.

Auch für *Oscillaria brevis* sind also die verschiedenen Stickstoffverbindungen von sehr ungleicher Brauchbarkeit, die stark von der Konzentration abhängt. Da der Versuch in dieser Ausführlichkeit nur einmal angestellt wurde, läßt sich nicht sagen, inwieweit die wechselnden Ergebnisse bei verschiedenen Konzentrationen gesetzmäßig sind. Soviel aber ist sicher, daß Pepton, Glycocoll und Asparagin sehr gutes Wachstum ergeben können, das selbst das mit Kalisalpeter übertreffen kann, daß dagegen Leucin und Acetamid sich nicht eignen. Eine Prüfung mit dem Indikator Nilblau ergab nirgends merkliche Basizität, sodaß die schlechten Resultate nicht einer Abspaltung von Ammoniak zuzuschreiben sind.

28. August 1912:

Nostoc spec. Dieselbe Versuchsanstellung, geimpft aus Heydenagarröhre vom 29. Juli.

Ergebnis am 1. September:

Nur bei 1c. etwas ausgebreitet.

3. September:

1a. ? 1b. Etwas strahlend. 1c. Gut strahlend. 2a. bis c. Ganz wenig Fäden herausgekrochen. 3a. bis c. Ebenso. 4a. Etwas mehr, b. u. c. noch mehr strahlend. 5a. bis c. Ziemlich gut ausgebreitet. 6. Nicht viele Fäden herausgekrochen.

16. September:

1a. Wenig strahlend. 1b. Besser, Fäden von verschiedenen Punkten strahlig ausgehend. 1c. Von einem Klümpchen Fäden nach dem Fenster und entgegengesetzt phototropisch strahlend. Gutes Wachstum. 2a. bis c. Wie 1b. 3a. Gut gefärbt, aber nicht ausgebreitet. 3b. Klümpchen schwimmt, wenig strahlend. 3a. Wie 1b. 4a. Ähnlich, wenig. 4b. u. c. Anordnung ebenso, aber sehr viel mehr gewachsen. 5a. bis c. Sehr gut, besonders b., phototropische Fäden. 6. Wenig strahlend.

22. September:

1a. Schlecht. 1b. Viele kleine nestartige Fadenhäufchen mit Strahlen. 1c. Anordnung wie oben, aber dichter. Farbe und Vermehrung gut. 2a. Anordnung wie 1b., aber gelblich. 2b. u. c. Viele kleine tiefblaugrüne Stränge von Komma- und Schleifenform. 3a. bis c. Ähnlich, aber weniger und gelblich. 4a. Tot. 4b. u. c. Sehr gut, Anordnung wie bei 1b. 5a. Ebenso. 5b. u. c. Noch besser, an der Fensterseite schön blaugrüne Masse, sonst feines Netz. 6. Viel weniger, angeordnet wie bei 1b.

1. Oktober:

1a. Unverändert, teilweise noch grün. 1b. Vermehrung hat aufgehört, Fäden verfärbt. 1c. Gut, in der Mitte des Bodens dichte Häufung und von da strahlige Ausbreitung. 2a. Wie früher. 2b. u. c. Wie früher, aber gelblich grün. 3a. bis c. Alles entfärbt. 4a. —. 4b. u. c. Sehr gut. 5a. bis c. u. 6. Sehr gut.

Die guten Kulturen 1c., 4b. u. c., 5a. bis c. u. 6. weiter aufgehoben, bei den anderen mit Nilblau die Reaktion geprüft: 1a. rosa, 1b. lila, 4a. rosa, die anderen blau oder blaulila, d. h. die von vornherein schlechten Kulturen alkalisch, die anderen neutral. Es wird also wohl aus Pepton und Asparagin Ammoniak abgespalten, das bei zu hoher Konzentration schädlich wird.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß Pepton und Asparagin bei großer Verdünnung, Acetamid auch bei etwas höherer Konzentration für den *Nostoc* geeignete Stickstoffquellen sind, ja daß sie den Kalisalpeter übertreffen können. Leucin und Glycocoll dagegen sind ungünstig, ebenso Pepton und Asparagin

bei zu hoher, noch immer, absolut genommen, geringer Konzentration. Der *Nostoc* ist ja überhaupt empfindlicher gegen organische Stoffe als die Oscillarien. Ein weiterer Unterschied gegenüber diesen liegt in der Brauchbarkeit des Acetamids.

E. Zucker neben organischen Stickstoffverbindungen am Licht und im Dunkeln.

7. September 1912:

Oscillaria brevis, geimpft aus üppiger Galaktosekultur v. 14. August in:

	a.	b.	c.
1.	0,1% Glukose	0,05% Asparagin	0,05% Pepton	0,05% $(NN_4)_2HPO_4$
2.	= Fruktose	=	=	=
3.	= Galaktose	=	=	=
4.	= Arabinose	=	=	=

Dazu überall 0,005% $MgSO_4$; 0,01% K_2HPO_4 und Spur $FeSO_4$, alles gelöst in dopp. dest. Wasser, sterilisiert durch dreimaliges Erhitzen im Dampftopfe. Je zwei Kölbchen zu 25 ccm, von denen immer eins ins Dunkle, eins ans Nordfenster kommt.

Ergebnis:

Nach fünf Stunden beginnt die Ausbreitung, und zwar zunächst in den Kulturen mit Asparagin.

16. September:

Hellkulturen.

1a. Oscill. fein ausgebreitet, Wachstum noch gering. 1b. Schwimmendes, gutes Häutchen in der Mitte des Wasserspiegels. 1c. Wie 1a. 2a. Wie 1b., aber gelblicher. 2b. Wie 1a., aber mehr. 2c. Nicht so ausgebreitet, nur strahlend, aber gut aussehend. 3a. Ähnlich wie 2a., aber an der Fensterseite mehr. 3b. und c. Etwas weniger. 4a. Wie 3c., aber durch Pilz infiziert. 4b. und c. Etwas weniger.

Dunkelkulturen.

1a. Ziemlich weit strahlend, gut aussehend. 1b. Wenig strahlend, aber wohl gesund. 1c. Schwimmendes Klümpchen, sehr wenig strahlend. 2a. Durch Pilz infiziert, beseitigt. 2b. Zusammengeballt, aber gut gefärbt. 2c. Etwa wie 1a. 3a. Wie 1c. 3b. und c. Mehr strahlend. 4a. Gar nicht ausgebreitet. 4b. Fast nicht ausgebreitet. 4c. Ganz wenig strahlend.

22. September:

Hellkulturen.

1a. Schwaches Netz. 1b. Gute Haut. 1c. Wie 1a. 2a. Wie 1b. 2b. Ebensogut, aber am Glase. 2c. Weniger. 3a. Wie 1a. 3b. Üppig, auf der Fensterseite am Glase hochgekrochen. 3c. Wie 1a. 4a. Großes Pilzmycel, aber trotzdem Oscillarienwachstum gut. 4b. Ähnlich wie 1a., aber etwas mehr. 4b. Ähnlich, aber gelblich.

Dunkelkulturen.

1a. Gut strahlend und gesund aussehend. 1b. Strahlt viel weniger. 1c. Ganz wenig strahlend. 2b. Klümpchen festgeheftet. 2c. Gut ausgebreitet. 3a. bis c. Etwa wie 1b. 4a. bis c. Wie 2b. Nirgends Vermehrung!

22. Oktober:

Hellkulturen.

1a. Viel Fäden, fein verteilt, aber gelblich. 1b. Sehr gut, Haut dicht, dunkelgrün, Fäden kraus aussehend. (Bei mikroskopischer Betrachtung Fäden vielfach verschlungen, teilweise kurz, Zellen ab und zu abgerundet, im ganzen gesund aussehend.) 1c. Schlecht, gelb. 2a. Wie 1c., wenn auch etwas mehr. 2b. Gut, Netz und Fäden. 3a. Nicht mehr weiter entwickelt, gelblich, aber nicht wenig. 3b. Äußerst üppig und gut gefärbt. 3c. Schlecht, gelb. 4b. Leidlich, grün. 4c. Schlecht, gelb.

Dunkelkulturen.

Keine Vermehrung oder sonstige Veränderung, aber Oscillarien überall gut gefärbt, also wohl lebend.

Nun die Kölbchen mit den Dunkelkulturen in einen Thermostaten von 31° gesetzt, da Bouilhac[1]) behauptet hat, daß sein *Nostoc punctiforme* mit Zucker bei einer Temperatur von etwas über 30° im Dunkeln wachsen könne (a. a. O. S. 39), während ihm das bei tieferer Temperatur nur bei schwachem Lichtzutritt gelungen sei.

Das Resultat war, wie zu erwarten, völlig negativ. Zwar behielten die Oscillarien ihre Farbe auch im Thermostaten während 14 Tagen, vermehrten sich aber nicht. Nachher wurden sie ans Licht gebracht, wo sie sich aber auch nicht mehr erholten, sondern unter allmählicher Verfärbung von den Spitzen der Fäden her zugrunde gingen. Was die Wirkung von Kohlehydraten neben organischen Stickstoffquellen in Hellkulturen anbelangt, so ergibt sich ein gutes Wachstum besonders auf Grund von Peptongaben. Asparagin ist schon weniger günstig, und Ammonphosphat erweist sich als schädlich. Die Nährlösungen mit dem letzteren werden bei dem Mangel an Calcium und der minimalen Menge von Magnesiumsalzen durch Verbrauch des Ammonions sauer geworden sein.

---

[1]) R. Bouilhac, Recherches sur la végétation de quelques algues d'eau douce. Thèse de Paris, 1898.

Inhalts-Übersicht.

I. Einleitung 49
II. Erzielung der Reinkulturen 54
III. Die reinkultivierten Arten 61
IV. Entwickelung und Habitus der Kulturen 64
V. Kultur auf Nährgallerte 69
VI. Kultur in Mineralsalzlösungen 74
VII. Kultur in Nährlösungen mit organischen Stoffen 80
A. Organische Säuren 81
B. Höhere Alkohole 82
C. Kohlehydrate 82
D. Organische Stickstoffverbindungen 83
VIII. Dunkelkulturen 84
IX. Schluß 85
X. Zusammenfassung 87
Anhang. Einige Protokolle und deren Besprechung 88

Figurenerklärung.

Tafel II (Schizophyceen).

I. Die Photographie zeigt einige charakteristische Agarröhrchen, die am 26. August 1912 aufgenommen wurden, bei schwacher Verkleinerung.

1. *Oscillaria brevis,* am 21. Juni in Asparaginagar geimpft, tiefgraugrün, zeigt die Art der Ausbreitung am Glase in älteren Kulturen.

2 *Osc. brevis,* am 27. Juni in Agar mit Erdeauszug und 0,1 % KNO_3 geimpft. Die üppige Kultur zurzeit der Aufnahme ockergelb.

3. *Oscillaria tenuis.* Ein Klümpchen Material war am 24. August aus einer Eiweiskultur auf gewässerten Salpeteragar übertragen worden. Ausbreitung noch ohne wesentliche Vermehrung.

4. *Osc. tenuis,* am 1. August auf Heydenagar geimpft, zeigt schon gutes Wachstum.

5. *Osc. tenuis.* Eine größere Menge Material aus einer Flüssigkeitskultur am 22. August auf Gelatine übertragen. Man sieht unten das bei dichter Häufung erfolgende strahlige Eindringen in die Gelatine, wodurch der runde Hof um den Impfklumpen entsteht.

6. *Nostoc spec.,* am 16. August auf Agar mit 0,2 % Heyden-Nährstoff übertragen. In den 8 Tagen hat die strahlige Ausbreitung begonnen. Wachstum noch gering.

7. *Nostoc spec.*, ältere Heydenagarkultur.

8. *Oscillaria brevis* vom 2. August auf Fleischextraktagar, von der Rückseite aufgenommen. Ausbreitung in Wirbeln zwischen Agar und Glaswand.

II. *Oscillaria brevis.*

1. Haut und Rand in einer Flüssigkeitskultur mit 0,1 % KNO_3 vom 2. August bis 2. Oktober 1912. 2. *Osc. brevis* in einer schwach basischen Nährlösung mit KNO_2 als Stickstoffquelle. Schönes Netz mit Strängen am Boden. 31. August bis 2. Oktober 1912.

III. *Nostoc spec.*

3 Kolben mit verschiedenem Habitus aus einer Versuchsreihe vom 28. August, aufgenommen am 20. Oktober 1912. 1. Pepton 0,01 %. 2. Asparagin 0,05 % 3. KNO_3 0,1 %. Bei 1. Klümpchen mit Strahlung, bei 2. einzeln liegende phototropische Fäden, bei 3. kleine, regellos verteilte Stränge. (Der schwarze Fleck führt von einer Spiegelung her.)

Über den mechanischen Ausgleich der durch Verhinderung der geotropischen Krümmung in den Pflanzen entstandenen Spannungen.

Von **Richard Morgenstern.**

Einleitung.

Die Versuche und Beobachtungen von Sachs (I, S. 193) haben ergeben, daß eine geotropische Krümmung horizontal gelegter Pflanzen durch ein beschleunigtes Wachstum der Zellen der Unterseite und durch ein vermindertes Wachstum der Zellen der Oberseite ausgeführt wird. Die Reaktion ist eine Wachstumserscheinung. Wo das Wachstum erloschen ist, erfolgt auch keine Krümmung.

Wird nun eine Pflanze an der Krümmung gehindert, so kann sich die Unterseite nicht verlängern. Infolge der dauernden Einwirkung des geotropischen Reizes ist sie jedoch bestrebt, diese Verlängerung auszuführen. Ähnlich wie nun nach Pfeffer (I, S. 237) Pflanzenorgane gegen ein äußeres Hemmnis arbeiten, muß hier die Unterseite gegen die Oberseite wirken, die für sie einen äußeren Widerstand darstellt. Als Energiequelle für solches Wirken ist nach Pfeffer (I, S. 237) der Turgor anzusehen, der durch das entspannende Wachstum der Zellen der Unterseite für Außenleistungen frei wird. Diese bestehen in einer elastischen Dehnung der Zellen der Oberseite. Es werden daher infolge der einseitigen Wachstumsvorgänge Spannungen in der Pflanze geschaffen, und zwar wird die Unterseite in Druckspannung, die Oberseite in Zugspannung versetzt. Der stärkste Spannungsunterschied besteht im allgemeinen zwischen der äußersten Ober- und Unterseite. Dazwischen gibt es weniger entgegengesetzt sich verhaltende Schichten und schließlich auch eine, die an der Grenze von Zug und Druck liegt. Diese neutrale Grenzschicht darf als spannungslos angesehen werden. Wird dann das Hemmnis, welches der Pflanze die Aufkrümmung unmöglich machte, beseitigt, so kommt auf der Unterseite wieder die volle osmotische Energie gegen die Zellwände zur Wirkung, die dementsprechend gedehnt und gespannt werden. Die Zellen werden dadurch verlängert. Auf der Oberseite ziehen sie sich jedoch infolge der Elastizität der Wandungen wieder

auf die ihnen zukommende Länge zurück. Dadurch werden die Spannungen wieder ausgeglichen, und als äußere sichtbare Reaktion tritt eine plötzliche Emporkrümmung der Pflanze ein.

Dieser Ausgleich der Spannungen ist schon von mehreren Forschern, wenn auch nur mehr gelegentlich, beobachtet worden. So hat Sachs (I, S. 204) Versuche angestellt, bei denen er Stengelstücke horizontal in einen Zinkkasten gelegt und dann mit einer 4–5 cm dicken Lage feuchten Sandes bedeckt hatte. Dadurch waren sie an der geotropischen Krümmung gehindert worden. Nach einiger Zeit befreite er sie von dem Hemmnis und konnte beobachten, daß sofort eine Aufwärtskrümmung eintrat, die aber viel schwächer ausfiel als bei solchen Sprossen, die in derselben Zeit eine geotropische Krümmung ausgeführt hatten. Die Differenzen im Längenwachstum der einzelnen Gewebestreifen eines gehinderten Sprosses waren der Art nach denen eines frei gekrümmten gleich, der Quantität nach geringer, der geringen Krümmung entsprechend. Ohne näher auf diese Erscheinung einzugehen, begnügte sich Sachs mit der Tatsache, daß die plötzliche Krümmung weniger intensiv war als die geotropische Krümmung ungehinderter Sprosse.

Auch De Vries (II, S. 481) konnte ähnliches konstatieren, und zwar hinderte er durch geeignete Vorrichtung aus Haferstengeln herausgeschnittene Stücke, die in der Mitte einen Knoten besaßen, etwa 10 Tage lang an der geotropischen Aufkrümmung. Nach dem Befreien von dem Hemmnis krümmte sich der eine Stengel plötzlich empor, wodurch ein Winkel von 20—25° in einigen Knoten erreicht wurde. Er schlägt vor, diese Erscheinung, „welche mutatis mutandis auch bei wachsenden Sproßgipfeln beobachtet werden kann, mit dem Namen des potentiellen Geotropismus zu belegen.“ An anderer Stelle (I, S. 308) sagt er: „Les cellules du côté qui plus tard devient convexe ont peu à peu absorbé de l'eau, et, comme elles ne pouvaient s'étendre en longueur, elles ont dilaté et tendu leurs parois dans d'autres directions. L'obstacle disparaissant, elles prendront instantanément la forme qui s'accorde avec l'extensibilité et l'élasticité des parois cellulaires.“

Pfeffer (I, S. 400 ff.) konnte bei vollständig eingegipsten Grasknoten, die er 2–4 Tage horizontal gehalten hatte, nach dem Befreien aus dem Gipsverbande ein Emporschnellen von 5–8° konstatieren. In seiner Pflanzenphysiologie (1904 Bd. II, S. 659) spricht er davon, daß eine Schnellbewegung, worunter also das plötzliche Emporkrümmen verstanden wird, welches ein in Zwangslage gehaltener Sproß infolge Einwirkung eines tropistischen Reizes nach Befreiung aus dieser auszuführen imstande ist, durch den Ausgleich elastischer Spannungen hervorgerufen wird und deutet an, daß sie bei

Variationsbewegungen ansehnlicher zu sein pflegt als bei Nutationsbewegungen. Bei seinen Arbeiten über die Schlafbewegungen der Pflanzen hat er auch die Schnellbewegungen untersucht, die durch eine Bewegung der Blätter durch Turgoränderung, also durch Variation in einem polsterartigen Gelenk vollzogen werden. Er kommt zu dem Resultat (III, S. 182), daß in dem gegen einen Widerstand wirkenden Blatt die Bewegungsbestrebungen in der Hauptsache so fortgesetzt werden, wie es der Bewegungstätigkeit des freien Blattes entspricht. Er hat ferner beobachtet, daß auch den durch Wachstum vermittelten Schlafbewegungen dasselbe Verhalten zukommt, denn die momentan ausgeführte Schnellbewegung unterschied sich in ihrem Endresultat tatsächlich gar nicht oder fast gar nicht von der Krümmung eines ungehinderten Blattes.

Auch Wiedersheim (1904, S. 239) hat gefunden, daß die Blätter von *Impatiens parviflora,* deren Bewegungen ebenfalls durch Wachstum vermittelt werden, wenn sie durch Gewichtszug in Lichtstellung fixiert und 1—2 Stunden im Dunkeln gestanden haben, nach Beseitigung des Hemmnisses eine momentane Senkung ausführen, die nach einiger Zeit, anfangs rasch, später langsamer fortschreitend, schließlich zu der durch die Verdunkelung angestrebten Stellung führt.

Daß eine solche Schnellbewegung auch von den Ranken ausgeführt wird, die in der Zwangslage gereizt und dann befreit werden, haben de Vries (I, S. 308) und auch Fitting (1903, S. 531) beobachtet.

Nur die Wurzeln scheinen nach den mir bekannten Arbeiten von Sachs (II, S. 457), Pfeffer (I, S. 416) und Czapek (1895, S. 252 u. 280) hiervon eine Ausnahme zu machen.

Es war nun meine Aufgabe, diese Schnellkrümmung näher zu untersuchen. Hierbei stellte ich mir folgende Fragen:

1. Wo liegt die stärkste Krümmung?
2. Wie weit reicht die Krümmung?
3. Sind die Spannungen auch in solchen Partien noch erhalten, die in der Zwangslage ausgewachsen sind?

Meine daraufhin angestellten Versuche wurden mit Hypokotylen, abgeschnittenen Sproßspitzen, Knotenpflanzen und Wurzeln ausgeführt, wobei im wesentlichen zwei Methoden zur Anwendung gelangten, und zwar wurde die geotropische Aufkrümmung einmal durch Gewichtszug verhindert und außerdem durch totales Eingipsen der Objekte. Bei den Knotenpflanzen trat an Stelle des Gewichtszuges die „Gipsbrücke", und bei Wurzeln wurde die Abwärtskrümmung durch Einführen in Glasröhrchen verhindert. Näheres über die Methode wird an geeigneter Stelle noch angeführt werden. Zum Schlusse wurden noch Versuche mit gewaltsam gebogenen Hypokotylen angestellt, wobei die Spannungen

nicht durch Wachstumsvorgänge, sondern rein mechanisch durch eine von außen wirkende Kraft entstehen. Es wurde versucht, eine Parallele zwischen dem Ausgleich dieser Spannungen und dem Ausgleich der durch Wachstum erzeugten aufzustellen.

Abschnitt I.

Der Ausgleich der Spannungen bei Hypokotylen.

Ich arbeitete zunächst mit Hypokotylen von Pflanzen, die ich aus Samen in Töpfen gezogen hatte. Die Pflanzen hatten in einem nach Süden zu gelegenen Gewächshaus des Leipziger botanischen Instituts hinter großen Leinwandschirmen gestanden, die eine direkte Bestrahlung durch die Sonne verhüteten. Etiolierte Pflanzen waren entweder im Dunkelzimmer oder im Wärmezimmer unter schwarzen Zylindern gewachsen. Zu den Versuchen wurden nur kräftige Hypokotyle verwendet. Als Unterlage diente gewöhnlich ein leerer Blumentopf, der an einem Stativ befestigt war. Die geotropische Aufkrümmung wurde zunächst durch die „Zugmethode" verhindert. Näheres über die Anordnung findet sich bei Ball (1904, S. 308 ff.), worauf ich hiermit verweise. Als Gewichte dienten mir Bleirohrstücke von verschiedener Größe, die mit einem Drahthäkchen versehen waren. Je nach Bedarf, d. h. je nach der Dicke und der Wachstumsintensität des Hypokotyls wurden mehr oder weniger solcher Gewichte angehängt. Es mußte dabei Sorge getragen werden, daß die angehängte Last die Sprosse nicht zerriß, aber auch wieder ein Ausbiegen durch die Wachstumstätigkeit vermieden wurde. Wie starke Kräfte beim Wachstum der Pflanzen im Spiele sind und als Außenleistung zutage treten, ist in einigen Beispielen von Meischke (1899, S. 362) angegeben worden. Als Durchschnittsbelastung erwies sich meist ein Gewicht von 150 g als genügend. Die Versuche zeigten aber, daß mitunter auch eine extreme Belastung dennoch eine kleine Krümmung, besonders bei den mit großer Energie sich krümmenden Hypokotylen von *Lupinus albus*, nicht ganz ausschloß, worauf auch Bücher (1906, S. 282) und Ball (1904, S. 323) aufmerksam machen. War die Ausbiegung nur gering, so wurde sie nicht weiter beachtet, während größere Ausbiegungen anzeigten, daß das spannende Gewicht zu leicht war. Solche Pflanzen wurden dann ganz verworfen. Damit durch den immerhin beträchtlichen Zug die Pflanze nicht aus der Erde herausgerissen wurde, hatte ich nach der von Ball angegebenen Weise quer über den Topf einen Streifen Gipsbrei gegossen, der nach seiner Erhärtung eine genügend feste Widerlage bot. Eine gleichalte Pflanze wurde als Kontrollpflanze ebenfalls horizontal gelegt. Sie konnte sich frei aufkrümmen. Nach einem Tage wurde bei dem ge-

hemmten Hypokotyl die Lederschlinge dicht am Stengel abgeschnitten und es trat dann sofort ein Emporschnellen ein. Diese Schnellkrümmung wurde abgezeichnet.

Zu dem Zwecke wurde eine große photographische Camera verwendet, bei der die Mattscheibe durch eine einfache, mit Pauspapier überzogene Glasscheibe ersetzt war. Vorne hatte ich auf geeignete Weise ein Linsensystem eines Projektionsapparates angebracht. Der Abstand von der Pflanze bis zur Linse einerseits und dieser bis zur Mattscheibe andererseits betrug 30 cm. Diese Entfernung, bei der das Hypokotyl in natürlicher Größe auf der Mattscheibe sichtbar war, war vorher bestimmt und für immer eingestellt worden. Damit sich das Hypokotyl recht deutlich vom Hintergrunde abhob, hatte ich hinter ihm einen mit weißer Leinwand bespannten Wandschirm aufgestellt, hinter dem sich in gleicher Höhe mit dem Hypokotyl eine Glühbirne befand. Mit Hilfe eines in greifbarer Nähe angebrachten Schalters konnte sie bequem während der Zeit des Abzeichnens eingeschaltet werden.

Die Versuche waren zumeist auf dem Laboratoriumstisch aufgestellt. War das Hypokotyl von dem Hemmnis befreit, so wurde es sofort vor die Camera gestellt, die Lampe eingeschaltet und mit Bleistift die konvex gewordene Seite nachgezogen. Ebenso wurde das frei emporgekrümmte Hypokotyl abgezeichnet. Das Pauspapier wurde losgetrennt und der Krümmungsradius dadurch bestimmt, daß ich das Papier auf ein System konzentrisch aufgezeichneter Kreise legte, deren Radien von 5 zu 5 mm verschieden waren. Es wurde der Kreis aufgesucht, der bei möglichst großer Bogenlänge den kürzesten Krümmungsradius ergab. Bei dieser Bestimmung bleibt zwar der subjektiven Auffassung ein gewisser Spielraum, doch habe ich mich bemüht, immer möglichst gleichmäßig zu verfahren, soweit das eben hierbei möglich ist. Für vorliegende Zwecke dürfte diese Art der Bestimmung des Krümmungsradius völlig ausreichend sein.

Der Kürze halber habe ich durchgehends in der Arbeit die freie Pflanze mit (A) die gehemmte mit (B) bezeichnet und die ganze wachsende, also an der Aufwärtskrümmung sich beteiligende Region, in drei Abteilungen gesondert, in eine Spitzenzone mit dem intensivsten Längenwachstum, in eine Mittel- und in eine Basalzone, in der das Wachstum allmählich ausklingt. Die Länge dieser drei Zonen richtet sich natürlich nach der Länge des Objekts.

In Versuch 1 wurde zunächst der Einfluß der horizontalen Zwangslage auf das Längenwachstum festgestellt. Dazu wurden zwei Hypokotyle von *Helianthus annuus*, etwa 70 mm lang, mittels Tuschemarken in Zonen zu je 10 mm eingeteilt und horizontal gelegt. Die Zoneneinteilung begann an der Spitze. Die Länge der Zonen in Millimeter ist in der Tabelle I wiedergegeben.

Tabelle I.

Zone	A. nach 24	48	70	B. nach 24	48	70 Stunden
1	14	19	20	11	13	14
2	17	22	27	12	12	13
3	18	24	26	12	12	13
4	13	16	16	11	11	11
5	13	14	16	10	10	10
6	10	10	10	10	10	10
7	10	10	10	10	10	10
Gesamtzuwachs	25	45	55	6	8	11

Wir sehen hieraus, daß in der horizontalen Zwangslage das Längenwachstum bedeutend hinter dem eines solchen Hypokotyls zurückgeblieben ist, dem es möglich war, die geotropische Aufkrümmung auszuführen. Gleichzeitig konnten bei (B) in den Zonen 1—3, wo entsprechend bei (A) das stärkste Längenwachstum stattgefunden hatte, auf der Unterseite Querfaltungen und Querrunzeln konstatiert werden, während die Oberseite ganz glatt und glänzend war. (Vgl. hierzu auch De Vries I, S. 308, und Bücher 1906, S. 274.)

Daß diese Verlangsamung des Wachstums nicht durch die „Zugmethode“ bedingt wurde, sondern den besonderen Verhältnissen zuzuschreiben war, die bei dem Versuch durch die horizontale Zwangslage obwalteten, ergab der Versuch 2, bei dem ein Hypokotyl (B) von *Helianthus annuus*, etwa 50 mm lang, durch ein Gewicht von 150 g in Längszug versetzt wurde. Ein zweites Hypokotyl (A) von gleicher Länge wuchs frei empor. Der Gesamtzuwachs betrug:

	bei A.	bei B.
nach 42 Stunden	31 mm	35 mm
= 85 =	55 =	65 =
= 110 =	69 =	85 =
= 126 =	74 =	92 =

Es ergab sich also für B. sogar ein größeres Längenwachstum als für A. (Vgl. Wiesner 1881, S. 137, und Ball 1904, S. 312.) Der Zug hatte also nicht hemmend, sondern fördernd auf das Längenwachstum eingewirkt. Da meine Versuche aber meist nur einen Tag dauerten, braucht der durch den Zug bewirkte Einfluß, der während dieser Zeit also gering ist, nicht berücksichtigt zu werden.

Wir wenden uns nunmehr dem eigentlichen Thema der Arbeit zu.

Aus einer großen Anzahl von Versuchen wurden nur einige ausgewählt, die die Art des Ausgleiches der Spannungen besonders deutlich erkennen lassen. Diese sind, da sie im großen und ganzen alle dasselbe Resultat ergaben, nicht einzeln aufgeführt, sondern in der

Tabelle II.

a) grüne Hypokotyle.

Versuch	Objekt	Länge in mm	Versuchsdauer	Temperatur	Art der Krümmung	Lage der stärksten Krümmung	Länge des kleinsten Krümmungsradius in mm sofort	später	Länge der gerade geblieb. Basalzone in mm	Bemerkungen
3	Helianthus annuus	50	18 Std.	18—19	frei	Basalzone	15	—	8	
					geschnellt	Spitzenzone	25	15	8	
4	Helianthus annuus	50	17½ =	18—19°	frei	Basalzone	15	—	5	
					geschnellt	Spitzenzone	15	20	5	Sehr starke Schnellkrümmg.
5	Lupinus albus	60	22 =	18—19°	frei	Sp.b.Basalz.	40	—	—	Flache Krümmung.
					geschnellt	Sp.b.Basalz.	30	25	15	Annäh. kreisförm. Krümmg.
6	Ricinus communis	90	8	18—19°	frei	Mittelzone	35	—	10	Spitze h. Vertic. u. g. erreicht.
					geschnellt	Mittelzone	35	20	10	Spitze ü. d. Vertic. gekrümmt.
7	Lupinus albus	70	3 Tage	18—19°	frei	Basalzone	35	—	—	Spitze 90° hochgekrümmt.
					geschnellt	Mittelzone	25	15	15	Sp. sehr. w. üb. d. Vertic. gekr.
8	Helianthus annuus	70 / 60	3 =	18—19°	frei	Basalzone	20	—	20	
					geschnellt	Sp.b.Basalz	30	25	20	Annäh. krsf. Schnellkrümmg.

b) etiolierte Hypokotyle.

9	Ricinus communis	140	23 Std.	25°	frei	Basalzone	25	—	25	
					geschnellt	Spitzenzone	30	25	30	Sehr starke Krümmung.
10	Lupinus albus	90	24 =	25°	frei	Basalzone	35	—	—	
					geschnellt	Sp.b.Basalz.	25	20	10	Krsf. Krümmg. Sp. ü. d. V. gekr.
11	Lupinus albus	70	27 =	15°	frei	Basalzone	25	—	8	
					geschnellt	Sp.b.Basalz.	30	25	10	Annäh. krsf. Schnellkrümmg.
12	Lupinus albus	70	3 Tage	15°	frei	Basalzone	30	—	15	
					geschnellt	Sp.b.Basalz.	25	15	20	Krsf. Krümmg. Sp. ü. d. V. gekr.

Tabelle II zusammengestellt. Die Versuche 3—8 wurden mit grünen, die Versuche 9—12 mit etiolierten Hypokotylen ausgeführt. In der Kolonne „Länge des kleinsten Krümmungsradius" sind bei der geschnellten Pflanze zwei Werte angegeben, wovon sich der erste auf die sofortige, der zweite auf die nach einiger Zeit erreichte Krümmung bezieht. Dieser zweite Wert wurde erhalten, nachdem die Bewegung zum Stillstand gekommen war. Er stellt also ungefähr den Endwert dar. Versuch 9 und 10 waren im Wärmezimmer, Versuch 11 und 12 im Dunkelzimmer ausgeführt worden. Einige Besonderheiten sollen dann in der Diskussion noch erwähnt werden.

Die Versuche ergaben, daß nach Beseitigung des Hemmnisses das Hypokotyl sofort ein Stück emporschnellte. Diese Schnellkrümmung blieb aber nicht stehen, erreichte also nicht momentan einen Endwert, sondern setzte sich noch eine längere oder kürzere Zeit weiter fort. Dabei gelangte die Spitze nicht selten sogleich in die Vertikale, d. h. sie krümmte 90° empor. Meist bog sie dann noch über dieselbe hinaus, und zwar bedeutend weiter, als man solches bei sich frei emporkrümmenden Hypokotylen infolge der geotropischen Wirkung beobachten kann. Sehr oft wurde auch sofort die Vertikale überschritten. Die Krümmungsbewegung war je nach dem Objekte in verschieden langer Zeit beendet. Bei *Helianthus* betrug diese Zeit meist nur 30 Minuten, bei *Lupinus* konnte im Versuch 11 und 12 noch nach zwei Stunden eine schwache Zunahme der Krümmung beobachtet werden.

Die Form der durch Schnellen erzielten Krümmung, wie sie uns am Ende der Bewegung entgegentritt, ist nicht die eines Kreisbogens, sondern es gibt eine Stelle mit einem kleinsten Krümmungsradius. Von da an spitzenwärts sowohl wie basalwärts zu verflacht sich die Krümmung mehr und mehr, bis sie schließlich an der Basis in die Gerade übergeht. Die am stärksten gekrümmte Stelle liegt meist in der Spitzenzone, sie fällt also mit der Zone des intensivsten Längenwachstums zusammen. Wo dieses sich über die ganze Länge des Hypokotyls gleichmäßig verteilt, ist auch die Krümmung annähernd kreisförmig. Dies wurde z. B. bei den Hypokotylen von *Lupinus* konstatiert. Wir finden also hier ein Analogon zu der Beobachtung Nolls (1888, S. 506), daß ein reizbares Organ dort die stärkste Krümmung zeigt, wo es am lebhaftesten sich streckt. Man kann die Form der Schnellkrümmung mit der einer Parabel vergleichen, deren Scheitel in der am stärksten wachsenden Zone liegt. Bei der sich frei aufkrümmenden Pflanze liegt bekanntlich die stärkste Krümmung schließlich in der am wenigsten und endlich am langsamsten wachsenden Basalzone; die darüberliegenden Zonen haben ihre Krümmung durch ein antagonistisch geleitetes Wachstum wieder ausgeglichen.

In der Basalzone ist also die freie Pflanze viel stärker gekrümmt als die gehemmt gewesene. Die Zone der stärksten Schnellkrümmung kann man aber nicht direkt mit der entsprechenden einer freien Pflanze vergleichen, denn diese hat sich ja während des Versuches unter ganz anderen Bedingungen befunden. Wir können aber aus der Form der Schnellkrümmung verschiedene Schlüsse auf die Intensität der vorhanden gewesenen Spannungen ziehen.

Da die Spannungsintensität sich allmählich entwickelt, so muß sie auch infolge des Reaktionsbestrebens in den geotropisch reaktionsfähigen Zonen immer mehr zunehmen, bis schließlich die Zellen der Unterseite ausgewachsen sind. Das ist ganz deutlich aus den Versuchen mit *Lupinus* zu erkennen. In dem Versuch 7, wo das Hypokotyl drei Tage horizontal gehalten war, wurde nach dem Befreien von dem Hemmnis die Schnellkrümmung sofort bedeutend intensiver ausgeführt als im Versuch 5 mit nur 22 Stunden Versuchsdauer. Hier war die Krümmung annähernd kreisförmig und der Krümmungsradius betrug in der am stärksten gekrümmten Stelle 25 mm. In Versuch 7 betrug er jedoch nur 15 mm. Das Auswachsen der Zellen findet natürlich am ersten in der Basalzone statt. Dort erreichen die Spannungen also zuerst einen Endwert. Gleichzeitig nimmt auch an dieser Stelle die Elastizität der Wandungen immer mehr zu, während die Dehnbarkeit abnimmt, wie dies von Sachs (III, S. 763) und De Vries (III, S. 539) festgestellt worden ist. Dadurch wird der innere Widerstand immer größer, während die Kraft, ihn zu überwinden, immer kleiner wird. Die Folge davon ist, daß in der Basalzone nach den Dimensionsänderungen bemessen viel geringere Spannungsunterschiede entstehen als weiter spitzenwärts zu. In der Spitzenzone hat während der ganzen Zeit der Versuchsdauer das Wachstum auf der Unterseite stattgefunden, soweit es eben in der Zwangslage überhaupt hat stattfinden können. Dadurch sind die Spannungsunterschiede immer größer geworden und haben bald diejenigen der Basalzone überholt. Wir kommen also zu dem Ergebnis, daß die Spannungsunterschiede von einem Minimum in der Basalzone bis zu einem Maximum in der Zone des intensivsten Längenwachstums ansteigen, um dann noch weiter nach der Spitze zu wieder abzunehmen.

Die an der Basis gerade gebliebene Strecke bei der gehemmten Pflanze ist gleichlang oder nur wenig länger als die bei der frei gekrümmten. Die Schnellkrümmung hat sich also ungefähr gleichweit wie die freie Krümmung bis zur Basis hinab erstreckt. An der Stelle, wo sich eine Schnellkrümmung bemerkbar macht, findet der mechanische Ausgleich der Spannungen statt. Diese Stelle wird noch besonders deutlich markiert, wenn man den Krümmungsverlauf vom Moment des Ausgleiches an etwa alle 10 Minuten aufzeichnet. Dann sieht man,

daß von diesem Punkte an die weiteren Krümmungskurven alle ihren Ausgang nehmen. Ich bin nun der Meinung, daß auch unterhalb dieses Punktes noch Spannungen vorhanden sein müssen, die aber derart sind, daß sie keine Krümmung mehr bewirken können, da die inneren Widerstände zu groß sind. Es ist ja auch an der Stelle, wo eine freie Krümmung an der Basis ihr Ende findet, noch nicht alle Wachstumstätigkeit und damit alles Bestreben zum weiteren Krümmen erloschen. Wie weit dieses Wachstumsbestreben dann noch basalwärts zu möglich ist und auch in geringem Maße realisiert wird, wurde nicht untersucht. Wo dann alles Wachstum erloschen ist, wird ein vollkommen spannungsloser Zustand angetroffen, da ohne Wachstum trotz Einwirkung des geotropischen Reizes keine Spannungen entstehen können. Unter diesem spannungslosen Zustande ist natürlich der zu verstehen, der eben infolge ungleichseitigen Wachstums zwischen Ober- und Unterseite erst hervorgerufen wird. Daß an dieser Stelle aber noch ein Spannungsunterschied zwischen Mark und Rinde vorhanden ist, braucht wohl nicht weiter ausgeführt zu werden. Der spannungslose Zustand zwischen diesen beiden Elementen, auf den Kraus in seiner Arbeit über Gewebespannung (1867, S. 108) aufmerksam macht, dürfte erst da anzutreffen sein, wo sämtliches Wachstum aufgehört hat, nachdem zuvor durch Wachstumsvorgänge die Spannungen ausgeglichen worden sind.

Was nun die Versuche mit den etiolierten Hypokotylen anlangt, so sieht man, daß die Schnellkrümmung bedeutend intensiver als bei grünen erfolgt ist. Nicht selten fand eine sehr starke Überkrümmung der Spitze über die Vertikale hinaus statt. Das ist verständlich, denn nach Pfeffer (II, S. 652) ist der tropistische Reaktionserfolg u. a. abhängig von der Aktionsfähigkeit, weshalb etiolierte Stengel schneller und demnach auch stärker geotropisch reagieren. Auch hier schritt die Schnellkrümmung noch eine ganze Zeitlang weiter fort. Die Parabelgestalt ist aber eine gedrungenere geworden und geht mehr in die eines Kreisbogens über, d. h. die Zone der stärksten Krümmung mit dem kürzesten Krümmungsradius ist länger als bei grünen Hypokotylen. Das stärkere Schnellen wird also durch die ausgiebigere Wachstumstätigkeit bedingt, die mehr kreisförmige Gestalt der Krümmung kommt daher, daß bei etiolierten Stengeln die wachsende Region länger zu sein pflegt, woraus eine längere Zone mit gleich intensiver Wachstumstätigkeit resultiert. Daher werden auch die Spannungen in der Basalzone noch so stark ausgeprägt, daß der Krümmungsradius bei der Schnellkrümmung in dieser Zone oft nur wenig länger ist als in der Spitzen- und Mittelzone. In Versuch 10 führte das Hypokotyl von *Lupinus* eine so starke Schnellbewegung aus, daß die Krümmung vollkommen kreisförmig war.

Der Krümmungsbogen betrug sofort etwa 210° und nach 30 Minuten 250°.

Um eine weitere ungleichseitige Einwirkung des Schwerkraftreizes auszuschalten, wurde im Versuch 11 der Topf so an den Pfefferschen Klinostaten gesetzt, daß die Klinostatenaxe in die Normallage des Hypokotyls fiel. Die Krümmung schritt auch am Klinostaten weiter fort, und nach zwei Stunden hatte sich der kleinste Krümmungsradius auf 25 mm verkürzt. Nachdem beide Hypokotyle 17½ Stunden am Klinostaten rotiert hatten, waren die Krümmungen soweit wieder zurückgegangen, daß die Spitzenzonen wieder gerade geworden waren. Dieses Ergebnis stimmt auch mit den Beobachtungen von Baranetzky (1901, S. 145) überein, wonach eine geotropische Krümmung am Klinostaten wieder ausgeglichen wird, vorausgesetzt, daß das Wachstum inzwischen nicht erloschen ist. In der Basalzone waren die Krümmungen erhalten geblieben, sie hatten sich nur etwas verflacht. Der Krümmungsradius betrug bei beiden Hypokotylen dort etwa 35 mm. Ob nach längerer Versuchszeit nicht doch noch ein weiterer Ausgleich der Krümmungen in den ausgewachsenen Zonen stattfindet, wie es z. B. an Wurzeln von Simon (1912, S. 133 ff.) beobachtet worden ist, habe ich nicht untersucht. Es ist nicht ausgeschlossen, daß die in diesem Versuch konstatierte Abflachung der Krümmung in der Basalzone den von Simon bei Wurzeln beobachteten Erscheinungen entspricht.

Abschnitt II.

Der Ausgleich der Spannungen bei Sproßspitzen.

Es wurde eine Anzahl ganz gerade gewachsener Sproßspitzen aus dem botanischen Garten zu den Versuchen verwendet. Die Stengel der verschiedenen Spezies wurden gleichlang geschnitten und darauf mit dem abgeschnittenen Ende in Gipsblöcken befestigt. Zu dem Zwecke hatte ich mir deren mehrere im voraus gegossen, die etwa $5 \times 5 \times 3$ cm groß waren. In der Mitte hatte ich ein Loch gebohrt und sie dann in Wasser gelegt, damit sie sich genügend vollsaugen konnten. War dies geschehen, so wurden die Löcher mit Gipsbrei ausgegossen und die Stengel hineingesteckt. Nach einiger Zeit war der Gips erhärtet und hatte sich so fest mit dem Block verbunden, daß auch durch kräftiges Ziehen mit der Hand die Stengel nicht wieder herausgezogen werden konnten. Nach Beendigung des Versuches wurden die Stengel am Block abgeschnitten und mit dem Messer der darin steckende Stumpf herausgebohrt. Auf diese Weise konnten die Blöcke mehrmals wieder verwendet werden. Um nun zu verhüten, daß beim Erhärten des Füllgipses Wasser aus der Schnittfläche gezogen würde, legte ich die Blöcke, nachdem die Stengel

einigermaßen fest saßen, wieder ins Wasser. Darauf wurden sie in einen Zinkkasten auf einen aufgeschichteten feuchten Sandwall horizontal gelegt. Die Verhinderung der Krümmung geschah auch hier mit Hilfe der „Zugmethode". Der Zwirnsfaden lief über eine dünne Glasröhre, die in gleicher Höhe durch zwei Leisten gesteckt war, die ihrerseits wieder an den Seiten eines Brettes aufgenagelt waren. Ein quer durch den Zinkkasten gespanntes Brett verhinderte einmal das Herabrutschen des Sandes und diente, da es etwas über den Sand emporragte, gleichzeitig als Widerlage für die Blöcke. Die Vorrichtung gestattete, daß zu gleicher Zeit mehrere Versuchspflanzen angesetzt werden konnten. Über die Gipsblöcke waren Fließpapierstreifen gelegt, die aus einer Wasserschale getränkt wurden. An den Stengeln waren die Blätter abgeschnitten worden und dadurch die Verdunstung möglichst herabgesetzt. Durch Kontrollpflanzen, denen die Blätter belassen worden waren, hatte ich mich überzeugt, daß dadurch kein störender Einfluß auf die Krümmung zustande kam. Der Boden des Zinkkastens, der geschlossen gehalten wurde, war mit einer Schicht Wasser bedeckt, wodurch ein dampfgesättigter Raum erzielt wurde. In dem Zinkkasten war eine Durchschnittstemperatur von 20° C.

Sollte das Hemmnis beseitigt werden, so wurde auch hier wieder die Lederschlinge dicht am Stengel abgeschnitten. Dieser wurde dann aufrecht vor die Camera gestellt und die Krümmung und deren weiterer Verlauf abgezeichnet. Es war auch hier für genügende Bewässerung des Gipsblockes mit Hilfe feuchter Fließpapierstreifen gesorgt worden.

Nachdem im Abschnitt I die beiden ersten Fragen beantwortet worden sind, wurde hier ganz besonders auf die dritte Frage Wert gelegt: „Sind die Spannungen auch in solchen Partien noch erhalten, die in der Zwangslage ausgewachsen sind?" Dazu wurden die Stengel nach dem Aufzeichnen der freien sowohl als auch der Schnellkrümmung wieder in den Zinkkasten und zwar vertikal auf den Boden gestellt. Soweit die noch wachstumsfähige Region reichte, mußte nach den bisher gemachten Erfahrungen auch die Krümmung infolge der neuen veränderten Einwirkung des Schwerkraftreizes und des dadurch ausgelösten ungleichseitigen Wachstums wieder ausgeglichen werden. Was unterhalb dieser ausgeglichenen Zone lag und noch Krümmung im alten Sinne aufwies, zeigte, daß sie dort schon fixiert, daß diese Zone also ausgewachsen war. Nach einem Tage wurden die Stengel abermals abgezeichnet. Um die Länge der ausgewachsenen Zone messen zu können, wurde die zuletzt erhaltene Kurve mit der ersten so zur Deckung gebracht, daß die schon nach dem ersten Tage gerade gebliebenen Basalteile zusammenfielen. An der Stelle, wo beide aufeinander gelegten Krümmungen auseinandergingen, hatte neues Wachstum eingesetzt. Auf diese Weise konnte ziemlich genau das

Tabelle III.

Versuch	Objekt	Länge in cm	Versuchsdauer	Anzahl der Objekte	Art der Krümmung	Lage der stärksten Krümmung	Länge des Krümmungsradius in mm sofort	Länge des Krümmungsradius in mm später	Länge der gerade gebl. Basalzone in cm	Länge der erhalten gebl. Krümmung nach 24 Stunden in cm
13	Sisymbrium strictissimum	20	19 Std.	3	frei	Basalzone	30—35	—	3 —4,5	3,5—5
				5	geschnellt	Spitzenzone	30—50	25—40	4 —7	2,5—5
14	Lepidium Draba	16	22 =	4	frei	Mittelzone	20—25	—	5 —7	3 —4
				4	geschnellt	Spitzenzone	30—45	20—25	6,5—7,5	4 —4,5
15	Fritillaria Meleagris	13	21 =	2	frei	Mittelzone	20	—	5,5	1,5
				3	geschnellt	Mittelzone	18—20	13—15	5 —6,5	2
16	Hippuris vulgaris	15	24 =	3	frei	Basalzone	45	—	2 —3,5	7,5—9
				3	geschnellt	Spitzenzone	45—65	40—50	3 —4,5	10 —12,5
17	Clematis integrifolia	12	23 =	4	frei	Basalzone	30—40	—	4,5—7,5	—
				2	geschnellt	Spitzenzone	20—25	10—20	6,5—8	—
18	Syringa vulgaris	14	28 =	4	frei	Spitzenzone	40	—	2 —3	3 —4
				3	geschnellt	Spitzenzone	35—40	18—25	3 —4	3

Stück ermittelt werden, in dem die erste Krümmung erhalten geblieben war.

Diese Versuche sind in der Tabelle III zusammengestellt. Da diesmal zu jedem Versuch mehrere Objekte verwendet wurden, ist ihre Zahl mit angeführt worden. Bei der Angabe der „Länge des Krümmungsradius" etc. wurde nicht der Mittelwert eingezeichnet, sondern es sind die erlangten größten und kleinsten Werte als Grenzwerte angegeben. Wenn also z. B. im Versuch 13 die Länge des Krümmungsradius mit 30—50 mm angegeben ist, so heißt das, daß der kleinste Krümmungsradius einmal 30 mm, bei einem zweiten Objekt 50 mm lang war und bei einem dritten eine Länge hatte, die dazwischen lag. Die Zahlen sind also nicht zu lesen „30—50 mm", sondern „zwischen 30 und 50 mm".

Wir sehen, daß die abgeschnittenen Sproßspitzen, nachdem sie aus der horizontalen Zwangslage befreit worden sind, eine Schnellkrümmung ausführen. Diese wird nun je nach dem Objekt und seiner inneren Beschaffenheit mehr oder weniger intensiv vollzogen. Sie erfolgt auch hier bis zu einem gewissen Grade plötzlich und erreicht dann langsam den Endwert. Die Zeit, während welcher die Nachwirkung ausklingt, ist bei den einzelnen Objekten verschieden. Wenn man auch im großen und ganzen die Bewegung innerhalb weniger Stunden als beendet ansehen kann, so zeigte doch Versuch 18, daß sie bei *Syringa vulgaris* noch 7 Stunden nach dem Befreien von dem Hemmnis anhielt. Eine allgemeingültige Zeit als Grenze für den Ausgleich läßt sich also nicht angeben.

Bei diesen Versuchen trat besonders deutlich die parabelähnliche Gestalt der Schnellkrümmung hervor, deren Scheitel in der Spitzenzone liegt. Nach dem Basalende zu wird sie immer flacher. Die Versuche haben aber ferner ergeben, daß die Krümmung sowohl einer freien Pflanze in der Basalzone als auch die bei einer gehemmt gewesenen an derselben Stelle durch Schnellen erzeugten, auch nach erneuter Einwirkung des geotropischen Reizes in der Vertikalstellung auf ungefähr gleicher Länge erhalten geblieben war. Die Krümmung war nur in der Mittelzone und besonders in der Spitzenzone wieder ausgeglichen worden. Es muß demnach die gekrümmte Zone der freien Pflanze schon vor dem Vertikalstellen, also noch in der Horizontallage des Objekts ausgewachsen gewesen sein. Dies läßt aber die Folgerung zu, daß auch bei der gehemmt gewesenen Pflanze die an ungefähr gleicher Stelle stattgefundene Schnellkrümmung ebenfalls in einer Zone erfolgt sein muß, die schon in der Zwangslage ausgewachsen war. Die Spannungen sind also z. T. erhalten geblieben, obgleich die Zone des Auswachsens immer mehr spitzenwärts fortgeschritten ist, und sind nach dem Befreien von dem Hemmnis durch

die Schnellkrümmung rein mechanisch ausgeglichen worden. Kraus (1867, S. 108) kommt bei seiner Untersuchung über die Gewebespannung zu demselben Resultat. Er sagt, daß dort, wo die Gewebe in ihrer ursprünglichen Ungleichheit verharren, auch die Spannung in ihrer Intensität permanent ist.

Wenn man jedoch die Länge der gerade gebliebenen Strecke an der Basis bei den freien und bei den gehemmt gewesenen Pflanzen näher betrachtet, die sich z. B. im Versuch 18 bei der freien Pflanze zwischen 3 und 4,5 cm, bei der gehemmten zwischen 4 und 7 cm bewegt, so könnte man zu der Auffassung gelangen, daß hier infolge des fortschreitenden Auswachsens ein Teil der Spannungen mit ausgeglichen worden sein muß. Dies trifft wohl auch sicher bis zu einem gewissen Grade zu, aber man muß auch bedenken, daß zur Erzeugung so starker Spannungsunterschiede, die ein Schnellen ermöglichen, das Wachstum mit einer gewissen Intensität erfolgen muß, um die inneren Widerstände zu überwinden. Was unter diesem Intensitätswert liegt, ist wohl noch fähig, einen freien Stengel emporzukrümmen, vermag aber nicht mehr so starke Spannungsunterschiede hervorzubringen, daß eine Schnellkrümmung ausgeführt werden kann. In den Versuchen mit den abgeschnittenen Sproßspitzen macht sich demnach mit dem Alter die Zunahme der Widerstände besonders bemerkbar, die sich dem Ausdehnungsbestreben der Unterseite entgegensetzen. Durch diese Widerstände werden also einmal die Wachstumsvorgänge so stark beeinflußt, daß die Spannungsunterschiede auf einer längeren Strecke nur gering bleiben, und diesen schwachen Spannungsunterschieden treten sie dann beim Beseitigen des Hemmnisses weiterhin entgegen, so daß eine Schnellkrümmung nicht möglich ist. Erst wo die Spannungsunterschiede die Widerstände zu überwinden vermögen, kommt eine solche zur Ausführung.

Abschnitt III.

Elastische und geotropische Nachwirkung.

Wie wir gesehen haben, wird eine Schnellkrümmung anfangs sehr rasch ausgeführt und geht dann schließlich in eine langsamere Bewegung über. Diese Erscheinung hat eine gewisse Ähnlichkeit mit den Vorgängen, die sich bemerkbar machen, wenn man einen elastischen Körper ausdehnt und dann wieder losläßt. Er nimmt dann nicht sofort wieder seine ursprüngliche Gestalt an, sondern es bleibt zunächst eine kleine, erst allmählich verschwindende Deformation zurück. Diese Erscheinung wird bekanntlich die „elastische Nachwirkung“ genannt. Ohne damit sagen zu wollen, daß wir bei der Schnellkrümmung analoge Verhältnisse antreffen, können wir doch im

gleichen Sinne von einer elastischen Nachwirkung reden. Die Unterseite dehnt sich bis zu einem gewissen Grade momentan aus und die Oberseite zieht sich in entsprechender Weise zusammen. Der weitere Ausgleich der Spannungen findet dann um so langsamer statt, je mehr die Spannungen abnehmen und je größer die inneren Widerstände werden.

Bekanntlich hört aber auch eine geotropische Krümmung, wenn das Objekt plötzlich aus der Reizlage entfernt wird, nicht sofort auf. Es macht sich vielmehr eine „geotropische Nachwirkung" geltend, die mehr oder weniger lange Zeit noch fortdauert. Diese Nachwirkung kommt dadurch zustande, daß die Wachstumserscheinungen, die infolge der Einwirkung des Reizes ausgelöst werden, noch längere Zeit anhalten und erst allmählich zum Stillstand gelangen. Es liegt nun nahe, anzunehmen, daß auch bei der gehemmten Pflanze nach dem Befreien aus der Zwangslage noch eine solche geotropische Nachwirkung zur Geltung kommt. Daher fragt es sich, wie weit darf man die allmählich ausklingende Schnellbewegung als elastische und wie weit als geotropische Nachwirkung ansprechen?

Da die elastische Nachwirkung als ein rein mechanischer Vorgang anzusehen ist, die geotropische Nachwirkung aber auf Wachstum beruht, so müssen beide Erscheinungen bis zu einem gewissen Grade getrennt werden können, wenn man das Wachstum sistiert. Dies läßt sich nach Czapek (1895, S. 108) durch Kälte erreichen.

Zu dem Zwecke wurden die gehemmten Stengel in der Zwangslage in eine Schale mit Wasser gelegt, in der Eisstücke schwammen. Das Wasser hatte eine Temperatur von 1—2° C. Die Hemmung war durch Einführung der Stengel in Glasröhren zustande gekommen. Nachdem ein Stengel (B_2), der einen Tag lang in dieser Zwangslage gehalten worden war, zwei Stunden in dem Eiswasser gelegen hatte, und zwar so, daß die Ebene der zu erwartenden Schnellkrümmung horizontal lag, wurde er aus der Glasröhre herausgezogen und die Schnellkrümmung aufgezeichnet. Darauf wurde er sofort wieder in das Eiswasser gelegt und Sorge getragen, daß die im Wasser schwimmenden Eisstücke die fortschreitende Einkrümmung nicht behinderten. Von Zeit zu Zeit wurden Kurven aufgezeichnet, die das Fortschreiten der Krümmung anzeigten. Ein anderer Stengel (B_1), der als Kontrollpflanze gleich lange Zeit in einer Glasröhre horizontal gehalten worden war, wurde während dieser Zeit in derselben Lage in ein entsprechendes Gefäß mit Wasser von Zimmertemperatur getaucht.

Als Versuchspflanzen dienten im Versuch 19 vier Stengel von *Solidago gigantea*, die etwa 13 cm lang waren und 24 Stunden horizontal gehalten wurden. Am Basalende waren sie in Gipsblöcken befestigt. Die zwei freien Stengel zeigten eine stärkste Krümmung

mit Radius 25 mm in der Basalzone. Die Schnellkrümmung der beiden gehemmt gewesenen Stengel (B_1 und B_2) war annähernd gleich, und zwar betrug der kürzeste Krümmungsradius in der Spitzenzone bei beiden etwa 65 mm. (B_2) wurde nun wieder ins Eiswasser gelegt. Beide Stengel krümmten sich etwa 20 Minuten lang mit derselben Intensität weiter. Dann blieb die Krümmung bei (B_2) etwa $2^1/_2$ Stunden stehen, während sie bei (B_1) weiter fortschritt. (B_2) wurde daher wieder aus dem Eiswasser genommen und vertikal vor die Camera aufgestellt. Nach einiger Zeit setzte sich dann die Krümmung weiter fort und hatte nach drei Stunden ungefähr dieselbe Gestalt angenommen wie bei (B_1). Der Krümmungsradius hatte sich bei beiden Stengeln auf 40 mm verkürzt.

Im Versuch 20 wurden vier Stengel von *Solidago canadensis*, 20 cm lang, 24 Stunden horizontal gehalten. Der kürzeste Krümmungsradius in der am stärksten gekrümmten Basalzone betrug bei (A_1) = 40 mm, bei (A_2) = 30 mm. Bei (B_1) und (B_2) war die Schnellkrümmung zu Anfang ebenfalls gleich intensiv. Der kürzeste Krümmungsradius in der Spitzenzone betrug bei (B_1) = 80 mm, bei (B_2) = 75 mm. (B_2) lag nun weiter zehn Stunden lang in Eiswasser. Als Endresultat ergab sich, daß (B_2) nicht so stark gekrümmt war wie (B_1). Um den Grad der Einkrümmung zu erreichen, der bei (B_2) nach zehn Stunden zu verzeichnen war, hatte (B_1) nur etwa zwei Stunden gebraucht. Bei beiden Stengeln hatten sich die Krümmungsradien verkürzt. Sie betrugen bei (B_1) etwa 40 mm, bei (B_2) etwa 45 mm.

Diese Versuche zeigen uns also, daß sich die Schnellkrümmung aus beiden Faktoren, der elastischen und geotropischen Nachwirkung, zusammensetzt, und zwar macht sich anfangs vornehmlich die elastische Nachwirkung bemerkbar. Schließlich wird sie von der geotropischen mit unterstützt, und von einer gewissen Zeit an kommt dann nur noch die geotropische Nachwirkung zur Geltung. Eine genauere Grenze zwischen beiden festzustellen, dürfte wohl nicht möglich sein.

Die bisher zur Anwendung gelangte Methode zur Verhinderung der geotropischen Aufkrümmung hatte als solche selbst gar keinen oder nur einen geringen Einfluß auf die Gestaltung der Pflanze. Wir haben gesehen, daß die in der horizontalen Zwangslage zur Ausbildung gelangten Spannungen lediglich durch die spezifischen Wachstumsänderungen infolge der obwaltenden Verhältnisse bedingt wurden. Wie aber schon auf S. 112 angedeutet wurde, konnte dabei eine geringe Ausbiegung nicht immer ganz vermieden werden. Um nun eine solche vollständig auszuschließen, vor allen Dingen aber auch eine hemmende Wirkung auf das Wachstum in der horizontalen Lage von außen ausüben zu können, wurde in dem folgenden Abschnitt die Krümmung durch totales Eingipsen der Objekte verhindert. Es fragt sich nun,

Tabelle IV.

a) grüne Hypokotyle.

Versuch	Objekt	Länge in mm	Versuchsdauer	Temperatur	Art der Krümmung	Lage der stärksten Krümmung	Länge des Krümmungsradius sofort	Länge des Krümmungsradius später	Grad der Aufkrümmung sofort	Grad der Aufkrümmung später	Länge der gerade gebl. Basalzone in mm
21	Helianthus annuus	45	24 Std.	18—19°	frei geschnellt	Basalzone	20 mm	—	70°	—	—
						Spitzenzone	40 "	20 mm	35°	60°	15 mm
22	Ricinus communis	90	22 "	18—19°	frei geschnellt	Basalzone	30 "	—	90°	—	15 "
						Spitzenzone	45 "	—	55°	60°	30 "
23	Cucurbita Pepo	75	20 "	18—19°	frei geschnellt	Basalzone	25 "	—	90°	—	10 "
						Sp. bis Mittlz.	70 "	—	15°	20°	30 "
24	Vicia Faba	80	20 "	18—19°	frei geschnellt	Basalzone	35 "	—	90°	—	10 "
						Spitzenzone	80 "	—	20°	30°	25 "
	b) etiolierte Hypokotyle.										
25	Helianthus annuus	35	5 Std.	24°	frei geschnellt	Basalzone	10 mm	—	90°	—	—
						Sp. bis Mittlz.	40 "	25 mm	45°	50°	—
26	Lupinus albus	80	21 "	24°	frei geschnellt	Basalzone	20 "	—	90°	—	10 mm
						Sp. bis Mittlz.	70 "	55 "	30°	45°	30 "
27	Ricinus communis	90	22 "	24°	frei geschnellt	Basalzone	25 "	—	90°	—	15 "
						Sp. bis Mittlz.	50 "	—	10°	15°	30 "
	c) Sproßspitzen.										
28	Solidago gigantea	10	15 Std.	20°	frei geschnellt	Basalzone	30 mm	—	90°	—	3 cm
						Spitzenzone	40 "	—	40°	45°	5,5 "
29	Sisymbrium strictiss.	20	20 "	20°	frei geschnellt	Basalzone	30 "	—	90°	—	—
						Spitzenzone	80 "	—	10°	—	16 "
30	Lepidium Draba	16	20 "	20°	frei geschnellt	Basalzone	25 "	—	90°	—	7 "
						Spitzenzone	50 "	45 mm	50°	60°	10 "
31	Fritillaria Meleagris	12	23 "	20°	frei geschnellt	Basalzone	20 "	—	90°	—	6 "
						Spitzenzone	45 "	25 mm	40°	60°	7,5 "

ob auch in dieser Zwangslage die inneren Wachstumsvorgänge zu Spannungsunterschieden zwischen Ober- und Unterseite führen und wieweit nach dem Entgipsen eine Schnellbewegung realisiert wird.

Abschnitt IV.

Der Ausgleich der Spannungen bei eingegipst gewesenen Pflanzen.

Das vollständige Eingipsen, sowie das Entgipsen der Pflanzen wurde nach der von Pfeffer (I, S. 239 ff.) angegebenen Weise ausgeführt. Die Hypokotyle wurden dazu am besten mit den Wurzeln aus den Töpfen herausgehoben, und nachdem der Gipsverband erhärtet war, wieder eingepflanzt. Sie wurden unter schwarzen Zylindern entweder im Laboratoriumszimmer bei einer Temperatur von 18—19° C. (grüne Pflanzen) oder im Wärmezimmer (etiolierte Pflanzen) bei einer Temperatur von durchschnittlich 24° horizontal gelegt. Die eingegipsten Sproßspitzen wurden auf den Boden eines mit feuchtem Sande bedeckten Zinkkastens bei einer Temperatur von durchschnittlich 20° horizontal gelegt. Über die basalen Enden der Stengel wurde der Sand zu einem Wall erhöht. Die Kontrollpflanzen wurden in Gipsblöcken befestigt und ebenfalls horizontal gelegt. Die Aufzeichnung der Krümmung geschah in der Weise, daß die Pflanzen nach dem Befreien aus dem Gipsverbande auf weißes Kartonpapier gelegt und mit Bleistift die konvex gewordene Unterseite vorsichtig umfahren wurde. Nach Durchpausen auf Pauspapier wurden die Krümmungsradien wie auf S. 113 bestimmt.

Die Versuche sind in der Tabelle IV zusammengestellt.

Wir sehen, daß auch Pflanzen, wenn sie durch totales Eingipsen an der geotropischen Aufwärtskrümmung gehindert und dann befreit werden, eine Schnellkrümmung ausführen. Diese fällt aber geringer aus als bei den durch die „Zugmethode“ gehemmten Pflanzen. Es findet auch hier eine geringe Nachkrümmung statt, die jedoch bald beendet ist. Die Schnellkrümmung hat gleichfalls parabelähnliche Gestalt. Meine Beobachtungen stehen demnach in einem Gegensatz zu den von Czapek (1895, S. 280) angeführten Ergebnissen. Er hat Hypokotyle von *Helianthus annuus* sechs Stunden lang eingegipst und horizontal gelegt. Nach dem Befreien aus der Zwangslage hat er sie an den Klinostaten gestellt und gefunden, daß sie eine geotropische Nachkrümmung ausführen. Von einer Schnellkrümmung ist bei ihm nicht die Rede, und er scheint auch keine gesehen zu haben, denn er folgert aus seinen Beobachtungen, daß die Eingipsungsmethode ein Mittel sei, die Reaktionsfähigkeit zu verhindern, während die Empfindlichkeit intakt gelassen wird. Die Pflanze kann in der

Gipshülle den geotropischen Reiz wohl perzipieren, aber nicht durch Wachstum darauf reagieren. Das findet erst statt, wenn der Pflanze die Freiheit wiedergegeben ist. Daß die Zeit nicht den Unterschied zwischen meinen und Czapeks Ergebnissen verursachte, zeigt der Versuch 25, wo *Helianthus annuus* nur fünf Stunden eingegipst war und doch eine ganz ansehnliche Schnellkrümmung ausführte. Pfeffer (I, S. 379) hat nun nachgewiesen, daß auch bei Aufenthalt in Gips die Zellwände fortfahren zu wachsen, und daß sie dadurch oft sogar einen ansehnlichen Druck gegen die Widerlage entwickeln können, „woraus sich ganz allgemein ergibt, daß die jeweiligen Wachstumsbestrebungen nicht durch mechanische Hemmungen zum Stillstand gebracht werden" (III, S. 209). Die Deutung Czapeks ist demnach auch nicht mit der Auffassug von Pfeffer in Einklang zu bringen. In meinen Versuchen wird aber durch die realisierte Schnellkrümmung festgestellt, daß auch während der Zwangslage durch den Gipsverband Spannungen in der Pflanze entstanden sind. Es muß also auch im Gipsverband ein ungleichmäßiges Wachstum auf den antagonistischen Seiten stattgefunden haben, was mit den Erfahrungen von Pfeffer übereinstimmt.

Es fragt sich nun, in welcher Weise hat trotz allseitiger mechanischer Hemmung das Wachstum realisiert werden können? Um hierauf eine Antwort zu erhalten, müssen wir annehmen, daß es nach dem Entspannen der Zellwände und, soweit es die Interzellularen zulassen, zu inneren Ausbauchungen und Zellfaltungen gekommen sein muß, die aber, entsprechend der geringen realisierten Schnellkrümmung, nur sehr gering gewesen sein können. Pfeffer (I, S. 406) hat ähnliches für die Collenchymbündel in eingegipsten Grasknoten angenommen. Diese Faltungen auf radialen Längsschnitten mikroskopisch nachzuweisen, ist mir jedoch nicht gelungen. Das ist aber auch weiter nicht zu verwundern, wenn man nämlich die geringe Schnellkrümmung bedenkt und den durch die geringe Verlängerung der Unterseite auf eine Zellwand entfallenden Anteil berechnet. Es handelt sich dabei, wie auch im Versuch 32 ersichtlich wird, um eine Verlängerung von höchstens 1—2%, und diese in der Faltung einer Zellwand mikroskopisch erkennen zu können, dürfte wohl kaum möglich sein.

Wenn wir nun berücksichtigen, daß im Gipsverband eine Verlängerung des Objekts nicht möglich ist, so können wir auch nicht von einer passiven Ausdehnung der Oberseite sprechen, denn sie kann durch die Wachstumsvorgänge auf der Unterseite nicht oder doch nur minimal gedehnt werden. Es muß daher im Gipsverband die Oberseite in ihrem Zustand verharren, und deshalb dürften vorwiegend nur Druckspannungen auf der Unterseite zum Ausdruck kommen. Hieraus kann man dann auch zum Teil mit die geringe Schnellkrümmung der entgipsten Pflanze erklären. Die Oberseite wirkt nicht

aktiv mit, indem sie sich zusammenzieht, sondern sie setzt dem Ausdehnungsbestreben der Unterseite einen Widerstand entgegen, der nur soweit überwunden wird, als sie sich von der Unterseite zusammenpressen läßt.

Die Versuche haben aber ferner ergeben, daß bei den entgipsten Pflanzen ein längeres Stück an der Basis gerade geblieben ist als bei den frei sich aufkrümmenden. Hierfür können wohl zwei Erklärungen herangezogen werden. Einmal konnten, da die Zellen im Gipsverband schneller auswachsen, wie dies Pfeffer (I, S. 355) und Hallbauer (1909, S. 48) konstatiert haben, auf einer gewissen Länge der Basalregion auch gar keine Spannungen entstehen. Und wenn man zweitens berücksichtigt, daß auch in der am stärksten wachsenden Zone nur eine geringe Schnellkrümmung ausgeführt wird, wofür die Gründe eben erörtert worden sind, so ist es verständlich, wenn sich ein größeres Stück an der Basis mit seinem geringeren Wachstum nicht am Schnellen beteiligt hat. Das geringe Wachstum hat eben nicht ausgereicht, so starke Spannungen aufkommen zu lassen, daß nach Beseitigung des Hemmnisses die inneren Widerstände überwunden werden. Ich bin der Meinung, daß beide Erscheinungen, das vorzeitige Auswachsen und das geringe Wachstum in der Basalzone, das Auftreten von stärkeren Spannungen verhindert haben.

Das Erwähnte gilt in gleichem Maße für Hypokotyle wie auch für eingegipste Sproßspitzen. Einen allgemeingültigen Unterschied zwischen grünen und etiolierten Hypokotylen konnte ich nicht konstatieren, wenngleich auch die beiden Versuche 22 und 27 insofern eine Abweichung zeigten, als das etiolierte Hypokotyl von *Ricinus communis* bedeutend weniger schnellte als das grüne.

Abschnitt V.

Das Halbieren der geotropisch induzierten Stengel.

Einige Stengel wurden am basalen Ende in Gipsblöcken befestigt und durch die „Zugmethode“ im Zinkkasten einen Tag lang am Aufkrümmen gehindert. Darauf wurden sie mit einem feinen Messer in der Zwangslage senkrecht zur Krümmungsebene gespalten, so daß zwei möglichst gleiche Hälften, eine obere und eine untere, entstanden. Am oberen Ende wurden zunächst beide Hälften noch verbunden gelassen. Nun wurde der Schnitt bis zur Spitze durchgeführt und die Lederschlinge am Stengel abgeschnitten. Beide Hälften klafften dann auseinander. Die Versuche wurden mit Stengeln von *Silphium Hornemannii, Epilobium hirsutum, Sisymbrium strictissimum, Lepidium Draba* und *Fritillaria Meleagris* ausgeführt.

Sie haben ergeben, daß bei einem geotropisch induzierten Stengel, der in der Zwangslage halbiert wird, doch so, daß er an der Spitze noch verbunden bleibt, die untere Hälfte sofort nach unten ausbiegt, und zwar wird dabei die untere Seite konvex. Man kann daraus erkennen, daß sie im intakten Stengel zusammengepreßt gewesen sein muß und sich daher in Druckspannung befunden hat. Sie versucht sofort nach dem Halbieren länger zu werden und erreicht dies durch die Ausbauchung nach unten. Dieselbe Beobachtung hat auch Schtscherback (1910, S. 373) gemacht. Nachdem er seine Objekte sogleich beim Überführen in die horizontale Reizlage halbiert hatte, wuchsen die beiden Hälften verschieden schnell. Er sagt darüber: „Die zuerst fest anliegenden Spalthälften fangen an auseinander zu rücken und der Spalt zwischen denselben nimmt ständig zu. Wir bekommen das Bild eines Bogens, dessen Sehne durch die obere Hälfte gebildet wird." Was sich also bei Schtscherbacks Versuchen erst nach und nach eingestellt hat, hat sich bei meiner Versuchsanordnung plötzlich vollzogen. Die obere Hälfte verändert sich nicht; ihrem Streben, sich elastisch zusammenzuziehen, wirkt der Gewichtszug entgegen. Wurde dann der Schnitt bis zur Spitze durchgeführt und das Hemmnis beseitigt, so schnellten beide Hälften empor, die obere Hälfte aber bedeutend stärker als die untere. Nach einiger Zeit machte sich eine weitere Einkrümmung der oberen Hälfte bemerkbar, während die untere Hälfte gewöhnlich die Krümmung etwas verflachte.

Daß bei diesen Erscheinungen die im Stengel primär vorhandene Gewebespannung einen großen Einfluß mit ausübt, darf nicht übersehen werden, denn wir müssen immer bedenken, daß, wie auch Pfeffer (I, S. 427) dargelegt hat, die übliche Gewebespannung trotz mechanischer Hemmung des Wachstums erhalten bleibt. Der Einfluß geht nun dahin, daß sie beim Halbieren in der oberen Hälfte krümmungfördernd, in der unteren krümmunghemmend wirkt. Daraus erklärt sich dann auch die nach einiger Zeit erfolgte weitere Krümmung der Oberseite und die Verflachung der Krümmung auf der Unterseite.

Abschnitt VI.

Messungen mit dem Horizontalmikroskop.

Der folgende Versuch sollte zahlenmäßig den Nachweis bringen, daß beim Schnellen die konvex werdende Seite sich absolut verlängert, die konkav werdende dagegen verkürzt, daß sich also die untere ausdehnt, die obere zusammenzieht.

Versuch 32.

Ein Stengel von *Silphium Hornemannii*, etwa 25 cm lang, wurde am Basalende so in einem Gipsblock befestigt, daß in der Horizontallage die vier Flächen sich oben und unten, links und rechts befanden. Er wurde durch Zug in der Reizlage festgehalten. Die weitere Versuchsanordnung war folgende. Auf einem Brett war ein Holzklotz befestigt, auf dem zwischen drei eingeschlagenen Nägeln der Gipsblock unverrückbar eingeklemmt werden konnte. In einiger Entfernung war ein zweiter Holzklotz aufgenagelt, an dem in gleicher Höhe die Rolle angebracht war, über die der Faden lief, so daß der Stengel genau horizontal lag. Für gute Bewässerung des Blockes war gesorgt worden. Das Gestell stand im dampfgesättigten Zinkkasten bei einer Temperatur von 20° C. Nach einem Tage wurde das Hemmnis beseitigt und der Stengel schnellte sofort in flachem Bogen bis 90° empor. Der kürzeste Krümmungsradius in der Spitzenzone betrug 60 mm.

Beim Ansetzen des Versuches waren nun in einigen Abständen an der oberen und unteren Kante einer seitlichen Fläche möglichst genau senkrecht übereinander mit Tusche Systeme von je zwei kleinen Punkten angebracht worden, die etwa 5—7 mm auseinander lagen. Die genaue Entfernung wurde mit dem Horizontalmikroskop nach der von Pfeffer (I, S. 294) angegebenen Methode abgelesen. Ein Teilstrich der Skala im Mikroskop entsprach 0,0769 mm. Es wurde am Anfang des Versuches abgelesen, dann kurz vor dem Befreien von dem Hemmnis und zum Schluß, nachdem das Hemmnis etwa eine Stunde beseitigt, die Nachwirkung also zum großen Teile vorüber war.

Die Entfernung der einzelnen Punkte voneinander, in Teilstrichen ausgedrückt, sowie auch die Lage der Punktsysteme ist in der folgenden Tabelle wiedergegeben, in der auch die Verlängerung (+) und Verkürzung (—) in Prozenten ausgerechnet ist.

Addiert man die Zahlen, die den Zuwachs in 24 Stunden in Prozenten angeben, so erhält man für die Gesamtverlängerung des Stengels einen Durchschnittswert von 4,2%. Dieser Versuch zeigt uns also die geringe Verlängerung in der horizontalen Zwangslage. In Zone I, die das stärkste Längenwachstum aufzuweisen hat, kommt auf 5,7675 mm in der oberen Hälfte eine Verlängerung von 0,769 mm, d. i. 13,33%. Auf der Unterseite beträgt die Verlängerung 14,64%. Man sieht also, daß die Unterseite das Bestreben gehabt hat, schneller zu wachsen. Nach der Basalzone zu wird der Zuwachs geringer und in Zone VI konnte mit der angewandten Vergrößerung nur ein Zuwachs von einem Teilstrich konstatiert werden, das ist im Durchschnitt 1,6%. Nach Beseitigung des Hemmnisses trat dann die gewöhnliche Schnellkrümmung ein. Die erlangten Zahlen lassen deutlich erkennen, daß die Ober-

Tabelle V.

	System	Entfernung des Systems von der Spitze	Teilstriche zw. 2 Punkten am Anfang	nach 24 Stunden	nach dem Schnellen
oben	I	zwisch. 3 u. 4 cm	75	85 = + 13,33%	82 = — 3,5%
unten			68	78 = + 14,64%	80 = + 2,5%
oben	II	= 9 u. 10 =	72	75 = + 4 %	73 = — 2,7%
unten			72	74 = + 2,8 %	75 = + 1,3%
oben	III	= 13 u. 14 =	86	89 = + 3,5 %	87 = — 2,3%
unten			82	84 = + 2,4 %	85 = + 1,2%
oben	IV	= 16 u. 17 =	81	83 = + 2,4 %	83 = ± 0 %
unten			86	89 = + 3,5 %	90 = + 1,2%
oben	V	= 20 u. 21 =	90	92 = + 2,2 %	92 = ± 0 %
unten			88	89 = + 1,1 %	91 = + 2,4%
oben	VI	= 23 u. 24 =	69	70 = + 1,4 %	70 = ± 0 %
unten			53	54 = + 1,8 %	54 = ± 0 %

seite dabei kürzer geworden ist, daß sie sich also im Augenblick des Schnellens zusammengezogen hat, während die Unterseite länger geworden ist, sich also ausgedehnt hat.

Addiert man nun ebenfalls die Zahlen, die nach dem Schnellen die Verlängerung der Unterseite resp. die Verkürzung der Oberseite angeben, so erhält man für die Verlängerung der Unterseite 1,49% und für die Verkürzung der Oberseite 1,42%. Die Verlängerung des ganzen Stengels entspricht also ungefähr der Verkürzung. Die Werte der einzelnen Systeme sind untereinander natürlich nicht gleich, was mit der verschiedenen Wachstumsintensität zusammenhängt. Würden sie gleich sein, dann müßte die Schnellkrümmung die Form eines Kreisbogens haben. Die stärkste Schnellkrümmung lag jedoch in der Zone des stärksten Wachstums, also dort, wo das Punktsystem I aufgetragen war. Von da an basalwärts zu verflachte sie sich mehr und mehr. Dem entspricht auch die Verlängerung resp. Verkürzung in den einzelnen Systemen. Man sieht, daß beide Hälften in ungefähr gleicher Weise an dem Zustandekommen der Schnellkrümmung beteiligt sind. Mit Kohls Ansicht über die Beteiligung der beiden Hälften an der Schnellkrümmung kann ich mich nicht einverstanden erklären. Er legte (1894, S. 86) ein krümmungsfähiges Internodium von *Pisum sativum* horizontal und hinderte es durch Belastung an der Krümmung. Darauf schnitt er ein Stück heraus, und nach seiner Darstellung kontrahierte sich die obere Hälfte nach dem Zerlegen um 2 mm, während die untere Hälfte ihre Länge behielt. Er sieht dies als einen Beweis dafür an, daß nicht die Ausdehnung der Unterseite,

sondern die Kontraktion der Oberseite das agens movens bei dem Krümmungsprozeß ist.

Des weiteren wurden Versuche mit dem Horizontalmikroskop angestellt, und zwar wollte ich beobachten, ob in der horizontalen Zwangslage die untere Hälfte eines Stengels sich etwas nach unten ausbaucht, entsprechend den Ausbauchungen bei Grasknoten, die an der Aufwärtskrümmung gehindert werden, wie sie besonders von De Vries (II, S. 482) näher beschrieben worden sind. (Vgl. hierzu auch De Vries I, S. 308.)

Zu dem Zwecke verwendete ich ebenfalls Stengel von *Silphium Hornemannii*. Die Versuchsanordnung war dieselbe wie im Versuch 32. Diesmal wurden jedoch an einer Längsseite Systeme von drei übereinanderliegenden Punkten angebracht, von denen einer in der Mitte lag und je einer an der oberen und unteren Kante. Ihre Entfernung voneinander wurde mit dem Horizontalmikroskop gemessen.

Nach einem Tage konnte ich auch eine geringe Zunahme der Entfernung des unteren Punktes von dem in der Mitte konstatieren. Wurde dann das Hemmnis beseitigt, so konnte ich beobachten, daß die Entfernung des unteren Punktes von dem mittleren kleiner, die des oberen von diesem jedoch größer wurde. Die unter Druck befindliche Unterseite verkürzt bei Verlängerung ihren Durchmesser, während die Oberseite ihn beim Zusammenziehen vergrößert. Die Unterschiede waren jedoch sehr gering und betrugen nur $^1/_2$—1 Teilstrich der Skala in der am stärksten gekrümmten Zone. Meine vielen in dieser Hinsicht angestellten Versuche waren also recht wenig befriedigend. Ich habe daher von der weiteren Verfolgung dieser Fragen absehen müssen und will nur noch eine Beobachtung anführen, die mich in der oben dargelegten Annahme bestärkt.

Ich hatte Stengel von *Solidago gigantea* horizontal gehalten und nach einem Tag in Alkohol gelegt, ohne sie jedoch aus der Röhre herausgezogen zu haben. Nach einem weiteren Tag wurden dann die Stengel befreit und es trat kein Schnellen ein. Nunmehr wurden in der Zone, in der sonst die intensivste Schnellkrümmung stattfand, radiale Längsschnitte gemacht und unter dem Mikroskop betrachtet. Ich hoffte in den Zellen der Unterseite an deren Längswänden Faltungen zu finden, was jedoch nicht der Fall war. (Vgl. hierzu auch S. 128.) Dagegen konnte ich ganz deutlich gefaltete Querwände beobachten. Auf Schnitten von ungekrümmten Pflanzen, die ebenfalls in Alkohol gelegen hatten, und solchen, die eine Schnellkrümmung ausgeführt hatten, waren diese Falten ebensowenig zu sehen wie in den Zellen der Oberseite. Wenn also die seinerzeit konstatierten Falten der Querwände in den Zellen der Unterseite keine Täuschung waren, woran ich nicht glaube, da sie ganz deutlich und bei mehreren

Objekten zu sehen waren, so dürfte damit bewiesen sein, daß in der horizontalen Zwangslage eine geringe Ausbauchung nach unten stattfindet. Daß dies nach mehreren Tagen eintritt, ist ja von Bücher (1906, S. 274) konstatiert worden.

Bisher sind die Erscheinungen beobachtet worden, die infolge des mechanischen Ausgleiches der Spannungen nach Beseitigung des Hemmnisses hervortraten. In dem folgenden Abschnitt seien nun noch einige Beobachtungen mitgeteilt, bei denen der Ausgleich der Spannungen durch innere Wachstumsvorgänge erzielt wurde, indem das Objekt, ohne daß das Hemmnis beseitigt worden wäre, um 180° gedreht wurde. Dasselbe wurde dann durch Drehung der Objekte in der Zwangslage am Klinostaten erreicht.

Abschnitt VII.

Der Ausgleich der Spannungen infolge innerer Wachstumsvorgänge.

a) Drehung der Objekte um 180°.

Versuch 33.

Zwei in einem Topf gewachsene Hypokotyle von *Helianthus annuus*, 35 mm lang, wurden vier Stunden horizontal gehalten. (A) hatte während dieser Zeit die Aufkrümmung vollendet, es war aber noch das ganze Hypokotyl von der Spitze bis zur Basis gekrümmt. Die stärkste Krümmung lag in der Basalzone. (B) war durch Zug an der Aufkrümmung gehindert worden. Nunmehr wurde der Topf um 180° gedreht, ohne daß das Hemmnis beseitigt wurde, da es sonst zum Schnellen gekommen wäre. (A) zeigte mit der Spitze in einem Bogen nach abwärts, und nach weiteren vier Stunden hatte (A) die Krümmung wieder soweit ausgeglichen, daß es die horizontale Lage wieder einnahm. Nunmehr wurde das Hemmnis von (B) beseitigt und es trat kein Schnellen ein.

Versuch 34.

Ein zweiter in derselben Weise angestellter Versuch mit *Helianthus annuus* von derselben Länge ergab im wesentlichen das gleiche Resultat. Das Hypokotyl war 4½ Stunden in der Horizontallage gehalten worden. Darauf war der Topf um 180° gedreht und nach weiteren 24 Stunden das Hemmnis beseitigt worden. (A) hatte die Horizontale noch nicht wieder ganz erreicht, es zeigte mit der Spitze noch um wenige Grade abwärts. (B) führte eine geringe Schnellkrümmung aus, die Spitze schnellte etwa 5° unter die Horizontale.

Wir sehen also, daß die Spannungen durch ein entsprechend geleitetes Wachstum wieder ausgeglichen worden sind. Dabei ergab

sich, daß die Rückkrümmung einer ungehinderten Pflanze in ungefähr derselben Zeit erfolgte, als die erste Emporkrümmung, und daß zum Ausgleich der Spannungen durch Wachstum auch ungefähr dieselbe Zeit notwendig war als zur Entstehung derselben. Bei dem Ausgleich der Spannungen durch Wachstum fangen die unter Zugspannung stehenden Zellen der Oberseite nach Drehung um 180° infolge der veränderten Einwirkung des Geotropismus an sich zu entspannen, d. h. zu wachsen. Die Zellen, die unter Druckspannung standen und das Bestreben hatten, sich weiter auszudehnen, dürften dem nunmehr einsetzenden Wachstum der gegenüberliegenden Seite vielleicht nur passiv folgen.

Analoges hat Fitting (1903, S. 593) bei Ranken konstatieren können, die in der Zwangslage gereizt und erst dann befreit wurden, nachdem eine gekrümmte Ranke durch entsprechende Wachstumsvorgänge ihre Krümmung wieder ausgeglichen hatte. Es fand dann keine Einrollung statt, sondern die Ranken blieben gerade.

b) Drehung der Objekte am Klinostaten.

Versuch 35.

Zwei Hypokotyle von *Helianthus annuus*, etwa 35 mm lang, wurden an den Pfefferschen Klinostaten gesetzt, und zwar so, daß die Achse in die Horizontalebene fiel. Der Klinostat war aufgezogen, aber noch nicht in Bewegung gesetzt. (A) konnte sich frei emporkrümmen, während (B) durch Zug gehemmt wurde. Nach 7½ Stunden war (A) soweit emporgekrümmt, daß die Hauptkrümmung in der Basalzone lag, während die Spitzenzone wieder gerade geworden war. Die Richtung der Krümmung wurde durch einen Strich auf dem Topfrand markiert. Jetzt wurde der Klinostat in Bewegung gesetzt, das Hemmnis jedoch nicht beseitigt. Nach 14 Stunden war (A) nicht nur wieder gerade geworden, sondern mit der Spitze sogar etwas nach der entgegengesetzten Seite übergekrümmt. Das Hemmnis wurde nun beseitigt und es trat kein Schnellen ein.

Am Klinostaten war also die realisierte Krümmung durch entsprechendes Wachstum auf der Gegenseite wieder ausgeglichen worden. Mein Versuch stimmt demnach mit ähnlichen Beobachtungen von Baranetzky (1901, S. 154) überein. Er faßt sie in den Worten zusammen: „Der Stengel ist befähigt, auf jede durch äußere oder innere Faktoren hervorgerufene Krümmung durch ein Streben zur Krümmung nach der entgegengesetzten Seite hin zu reagieren. Mit der Bildung einer Krümmung werden zugleich auch die Bedingungen für eine Gegenkrümmung geschaffen."

Es wird aber durch den Versuch ferner gezeigt, daß auch schon ohne Realisierung der Krümmung in der horizontalen Zwangslage in dem Hypokotyl ein entgegengesetztes Wachstum ausgelöst wird, wodurch die entstandenen Spannungen ausgeglichen werden. Wir können also konstatieren, daß die durch Verhinderung der geotropischen Krümmung bewirkten Spannungsunterschiede wieder ausgeglichen werden können, wenn und solange ein antagonistisch eingeleitetes Wachstum stattfindet.

Dieses Ergebnis kann wohl mit einen Beweis für die Annahme Fittings (1903, S. 612) abgeben, wonach die Ursachen für den Ausgleich der Krümmungen darin gesucht werden, „daß die Ungleichheit der Verhältnisse, der Druckverteilung, Gewebespannung etc., die in den Zellen auf den verschiedenen Seiten des ursprünglich geraden Organs infolge einer angestrebten oder ausgeführten Reaktion hergestellt worden sind, als neuer Reiz empfunden wird.“ Dieser löst nun seinerseits die Erscheinungen aus, die das Organ wieder in den alten Zustand versetzen. Die Fähigkeit der Selbstregulation behalten die Pflanzen solange, als sie noch reaktionsfähig, d. h. in unserem Falle wachstumsfähig sind. Eine Hauptbedingung ist natürlich die, daß der erste Reiz wirkungslos gemacht wird, was z. B. bei der geotropischen Induktion durch Rotation am Klinostaten erreicht wird (vgl. hierzu auch Pfeffer II, S. 429, 516, 524; Czapek 1895, S. 314 und Ohno, 1908, S. 637).

Auch die Erfahrung von Wiedersheim (1904, S. 269—272) kann hier mit angeführt werden. Er hat beobachtet, daß die Rückkrümmung einer photonastischen und thermonastischen Krümmung dadurch zustandekommt, daß das infolge der Reizreaktion beschleunigte Wachstum der Unterseite bei Impatiensblättern erst etwas später ausgelöst wird als das der Oberseite, und daß dadurch die gesenkten Blätter wieder emporgekrümmt werden. Dazu hatte er Blätter etwa vier Stunden in Dunkelstellung festgehalten, und zwar in der Lage, die sie bei Tageslicht eingenommen hatten. Nach dem Befreien von dem Hemmnis beobachtete er, daß sie keine Schnellkrümmung ausführten, was sie jedoch taten, wenn er sie nur zwei Stunden festgehalten hatte. Es sagt dies, daß ebenso wie in meinem Versuche, zur Erzielung eines Rückganges als Gegenreaktion die Einkrümmung nicht nötig ist. Die in beschleunigtem Wachstum befindliche Seite zieht die andere unter Überwindung eines gewissen Widerstandes in die Länge. Dadurch ergibt sich auf der einen Seite eine aktive Streckung, auf der anderen eine passiv erreichte Verlängerung, eine elastische Dehnung, oder mit anderen Worten, eine Druck- und eine Zugspannung. Dieser Zustand wird von der Pflanze als ein neuer Reiz empfunden,

und sie leitet den Ausgleich durch entgegengesetztes Wachstum selbsttätig ein, wodurch sie dann im Sinne Fittings wieder in die Ruhelage gelangt.

Abschnitt VIII.

Der Ausgleich der Spannungen bei Knotenpflanzen.

Unter Knotenpflanzen verstehe ich solche, deren Stengel an den Blattansätzen knotenartig verdickt sind resp. bei denen die Knoten durch Blattpolster gebildet werden. Das zwischen zwei solchen Knoten liegende Internodium ist gewöhnlich nach einiger Zeit ausgewachsen und nur eine kurze Strecke, der Knoten, ist noch längere Zeit befähigt, nach Überführung in die horizontale Reizlage Wachstumsvorgänge auf der Unterseite auszulösen und dadurch den Stengel geotropisch aufzukrümmen. Die Knoten übernehmen dann die Rolle von Gelenken.

Man kann nun zwischen solchen Pflanzen unterscheiden, bei denen die noch wachstumsfähige Stelle eine Basalzone des Internodiums darstellt, wobei die Blattscheide mehr oder weniger passiv gekrümmt wird, wie es z. B. bei den Commelinaceen der Fall ist, und zwischen solchen, bei denen allein die Blattscheide zu den Wachstumsvorgängen befähigt ist und der eingeschlossene Stengel bei der Krümmung nur passiv mit gekrümmt wird. Zu den letzteren gehören die von mir benutzten Gräser *Alopecurus pratensis*, *Arrhenaterum elatius*, *Secale cereale*, *Triticum sativum*, *Hordeum sativum* und *Avena sativa*.

a) Commelinaceen.

Zunächst sollen nun die Versuche mit den Knotenpflanzen der ersteren Art angeführt werden.

Die Verhinderung der geotropischen Aufkrümmung geschah mit Hilfe der „Gipsbrücke“. Auf ein Brettchen von 10 cm Länge und 3 cm Breite wurden an den beiden schmalen Enden in einer Entfernung von 2 cm je zwei 5 cm lange Nägel, etwas schräg nach außen gerichtet, eingeschlagen. Um sie herum wurde mit Hilfe eines nicht allzu dünnen Gipsbreies ein Wall errichtet, der sich vollkommen fest mit ihnen und der Holzunterlage, die vorher einige Zeit im Wasser gelegen hatte, verband. In dem einen Wall, dem Basalwall, wurde das Basalende der Pflanze eingebettet, in dem Spitzenwall kam die Spitze zu liegen. Zu den Versuchen wurden ganz gerade gewachsene Stengel mit drei Knoten und möglichst langen Internodien verwendet. Der dritte von oben war der Versuchsknoten, da er sich, wie Barth (1894, S. 10) und Miche (1902, S. 533) festgestellt haben, am besten krümmt. Er schwebte frei in der Luft, während der zweite im

Spitzenwall eingebettet war oder kurz davor lag, denn es ist nach letzterem Autor (1902, S. 541) für das Zustandekommen einer normalen Krümmung in einem Gelenk die Anwesenheit der nächstoberen Knotenpartie erforderlich. Am Ende des Versuches wurden die Objekte dadurch befreit, daß der Stengel unmittelbar am Spitzenwall durchgeschnitten wurde. Die Kontrollobjekte, die sich frei aufkrümmen konnten, wurden mit dem basalen Ende in Gipsblöcken befestigt. Die Versuche waren in dem bereits mehrfach erwähnten Zinkkasten bei einer Temperatur von durchschnittlich 20° C. angesetzt. Einige Versuche wurden auch im Wärmezimmer bei einer Temperatur von 24° C. unter Glasglocken ausgeführt, die mit feuchtem Fließpapier ausgelegt waren. Nach dem Befreien von dem Hemmnis wurde an den Stengeln ein Stück weißes Kartonpapier angelegt und mit Bleistift die untere Seite umfahren. Die Winkel, die die Unterseite beider Schenkel einschlossen, wurden mit dem Transporteur bestimmt.

Auch mit total eingegipsten Pflanzen wurden einige Versuche ausgeführt. Das Eingipsen geschah auf die Weise, daß ich auf eine Glasplatte einen etwa ½ cm dicken Streifen Gips brachte und auf diesen die Stengel legte. Darauf bedeckte ich auch die Oberseite mit einer gleich dicken Schicht Gips. Nach dem Erhärten des Gipsverbandes wurde das Ganze horizontal auf feuchten Sand gelegt und über das Basalende der Stengel der Sand zu einem Wall aufgeschichtet. Sollten die Stengel aus der Zwangslage befreit werden, so wurde die Gipshülle durch einen leichten Druck zerbrochen und die Schenkel konnten dann ohne Zerrung freigelegt werden. Die Winkel wurden gleichfalls auf Kartonpapier aufgezeichnet und wie oben angegeben bestimmt.

Die Versuche sind in Tabelle VI zusammengestellt, und zwar sind die aus mehreren Versuchen erlangten Durchschnittswerte eingetragen.

Bei den Versuchen mit der Gipsbrücke konnte eine gewisse Ausbiegung nach unten nicht vermieden werden, namentlich war der über dem Knoten gelegene Schenkel etwas gebogen. Bei der freien Aufkrümmung war die Oberseite der Blattscheide passiv zusammengepreßt worden, was man deutlich an den aufgetretenen Querfalten sehen konnte. (Vgl. hierzu auch Pfeffer I, S. 321, und Barth 1894, S. 4). Die Blattscheide wurde daher vorsichtig entfernt, und es kam dann zu einer Verstärkung der Krümmung um 5—10°. Die inaktive Blattscheide hatte also einen Widerstand für die Bewegung abgegeben, der in einer Unterdrückung der Krümmung um einige Grade sich geltend machte. Bei den gehemmten Pflanzen wurde vor dem Befreien die Blattscheide ebenfalls entfernt, da auch die Schnellkrümmungen um einige Grade gehindert wurden. Die in den Versuchen angegebenen Winkel sind alle ohne Blattscheide gemessen.

Tabelle VI.

Versuch	Objekt	Versuchsdauer	Temperatur	frei gekrümmt	Brücke		eingegipst	
					geschnellt	nachgekr.	geschnellt	nachgekr.
36	Commelina nudiflora	24 Std.	20°	10 Stck. 58,5°	10 Stck. 23°	2,6°	5 Stck. 11°	2,4°
37	Commelina nudiflora	20 =	24°	6 Stck. 59,5°	6 Stck. 35,5°	1,8°	5 Stck. 11,4°	2°
38	Tradescantia fluminensis	24 =	20°	5 Stck. 28°	5 Stck. 10,4°	2°	5 Stck. 5°	—
39	Tradescantia fluminensis	28 =	24°	4 Stck. 44,2°	4 Stck. 24°	2°	4 Stck. 7,7°	—
40	Commelina bengalensis	46 =	20°	3 Stck. 36°	3 Stck. 18°	3,7°	—	—
41	Tradescantia virginica	48 =	20°	2 Stck. 72,8°	2 Stck. 22,5°	3,5°	2 Stck. 16,5°	5°

Ein für meine Versuche besonders günstiges Objekt war *Commelina nudiflora*, das sich durch lange Internodien und gute geotropische Krümmungen auszeichnete. Meines Wissens ist bei den bisher erschienenen Arbeiten, die sich mit diesem Gegenstande befassen, diese Pflanze niemals verwendet worden. Ich fand sie im Gewächshaus des Leipziger botanischen Gartens, wo sie gelegentlich mit anderen Pflanzen eingeschleppt worden sein soll. Für ihre Bestimmung, die durch Vermittlung von Herrn Dr. Gießler im botanischen Garten zu Berlin geschah, sage ich ihm auch an dieser Stelle sowie dem „Botanischen Garten zu Berlin" meinen besten Dank.

Die Versuche zeigen, daß die Commelinaceen, wenn sie an der geotropischen Aufkrümmung gehindert werden, dennoch fortfahren auf der Unterseite der kurzen Wachstumszone stärker zu wachsen als auf der Oberseite, ja, daß sich die Oberseite nach Barth (1894, S. 11) überhaupt nicht verändert. Wir haben also hier im wesentlichen dieselben Erscheinungen wie bei Stengeln, nur daß die Wachstumszone auf eine kürzere Strecke beschränkt ist. Die ungleichseitigen Wachstumserscheinungen haben auch hier zu Spannungsunterschieden geführt, die in derselben Weise ausgeglichen werden wie bei den Stengeln. Nach dem Befreien von dem Hemmnis erfolgt die Krümmung ebenfalls momentan, sie erreicht aber nicht ganz die freie Krümmung. Die Bewegung wird dann langsam weiter fortgesetzt, doch ist die Nachkrümmung durchweg nicht sehr bedeutend und dauert auch nur kurze Zeit, etwa 10 Minuten. Kohl (1894, S. 23) hat ähnliche Versuche mit *Tradescantia discolor* angestellt und berichtet, daß nach dem Be-

freien von dem Hemmnis die Krümmung sehr rasch, in kaum 15 Minuten, ausgeführt wird. Die total eingegipsten Pflanzen zeigen eine noch geringere Schnellkrümmung. Daß sie aber überhaupt eine solche ausführen, läßt erkennen, daß auch im Gipsverband ungleichseitiges Wachstum stattgefunden haben muß, und daß dadurch Spannungsunterschiede entstanden sind.

Wurde eine Pflanze, die eine Schnellkrümmung ausgeführt hatte, in heißes Wasser gesteckt und dadurch sofort abgetötet, so änderte sich die Krümmung nicht wesentlich. Die Krümmung war also durch Wachstum fixiert worden. Hieraus können wir erkennen, daß es sich bei diesen Schnellkrümmungen um Wachstumskrümmungen, nicht um Variationskrümmungen handelt, worauf auch schon Barth (1894, S. 12) hingewiesen hat. Er hat gefunden, daß auch durch Plasmolyse die Krümmung nicht oder doch nur in geringem Grade rückgängig gemacht werden kann.

b) Grasknoten.

Die Versuchsanordnung war dieselbe wie bei den vorhergehenden Knotenpflanzen. Als Versuchsknoten wurden gewöhnlich die jüngsten genommen, nachdem die Pflanzen schon vollkommen entwickelt, aber noch nicht zum Blühen gekommen waren. Es wurde beim Ansetzen der Versuche große Sorgfalt darauf verwendet, daß nur solche Stücke benutzt wurden, deren Knoten nicht die geringste Krümmung aufwiesen. So konnte namentlich bei den eingegipsten Knoten der ganze Winkel zwischen den beiden Internodien als geschnellt betrachtet werden. Die Versuche wurden im Zinkkasten bei einer Temperatur von 20° C. ausgeführt. Sie sind in der Tabelle VII zusammengestellt, in der ebenfalls wieder die Durchnittswerte aus einer größeren Anzahl gleicher Versuche eingetragen sind.

Wird die geotropische Aufkrümmung eines horizontal gelegten Grashalmes verhindert, dann wird im Knoten bekanntlich ein Dickenwachstum der unteren Häfte ausgelöst, und es treten eigenartige Hervorwulstungen auf, die von De Vries (III, S. 482), Noll (1888, S. 508) und auch von Pfeffer (I, S. 396) näher beschrieben sind. Dadurch wird die Aktivität der konvex werdenden unteren Hälfte beim Krümmungsprozeß dargetan. Die obere wächst gar nicht. Man kann also auch hier nicht, im Gegensatz zu den Stengeln, von einer Verlangsamung des Wachstums reden, da vorher gar keins vorhanden war. Wie aus den vielen Querfalten im Knoten bei einer geotropischen Krümmung ersichtlich ist, wird die Oberseite dabei passiv zusammengepreßt. In der horizontalen Zwangslage wird sie etwas ausgedehnt und es kann schließlich sogar ein Zerreißen zustande kommen, wie dies von Pfeffer (I, S. 665) konstatiert worden ist. Doch ist die

Tabelle VII.

Versuch	Objekt	Versuchsdauer	Temperatur	frei gekrümmt	Brücke		eingegipst	
					geschnellt	nachgekr.	geschnellt	nachgekr.
42	Alopecurus pratensis	2 Tage	20°	4 Stck. 54°	4 Stck. 19,2°	2,2°		
43	Arrhenatherum elatius	2 =	20°	6 Stck. 39,8°	6 Stck. 14,5°	1,5°	6 Stck. 4,8°	
44	Secale cereale	3 =	20°	5 Stck. 40,8°	5 Stck. 10,8°	2,4°	5 Stck. 8°	1,6°
45	Triticum sativum	3 =	20°	7 Stck. 57,3°	7 Stck. 9,8°	1,1°	8 Stck. 8,7°	2°
46	Hordeum sativum	3 =	20°	6 Stck. 64,3°	8 Stck. 14,4°	6,9°	9 Stck. 11,5°	2,3°
47	Avena sativa	4 =	20°	8 Stck. 47,2°	8 Stck. 9,5°	0,7°	10 Stck. 4,1°	1,2°

Ausdehnung meist nur minimal. Die Oberseite setzt dem Druck der Unterseite infolge ihrer Festigkeit und hohen Elastizität einen beträchtlichen Widerstand entgegen. Die Auswulstung im Knoten sieht wie ein Keil aus, der zwischen die Internodien von unten hereingetrieben ist, und so ist auch die Wirkung, die von ihm ausgeht, der eines Keiles ganz ähnlich. Bei seinem andauernden Wachsen vermag er einen fortwährenden Druck gegen die Widerlage zu entwickeln, der für einige Fälle von Pfeffer (I, S. 388 ff.) näher bestimmt worden ist. Diese Widerlage wird nun in erster Linie durch die Internodien dargestellt, die unverrückbar im Gips befestigt sind. Würden sie aus einer weichen Masse bestehen, so würden sie einfach zusammengedrückt werden. Die Halme der Gräser setzen jedoch einem Druck in der Längsrichtung einen sehr starken Widerstand entgegen. Durch die keilförmige Gestalt der Knoten, die natürlich infolge der besonderen Verhältnisse durch die Wachstumserscheinung bedingt ist, wird aber schließlich der von ihnen ausgehende Druck in der Weise gegen die Internodien gelenkt, daß es zu einer mechanischen Biegung derselben kommt, die schließlich zu einem Knick führen kann. Auf diese Weise waren bei meinen Versuchen mit der Gipsbrücke fast sämtliche Halme mehr oder weniger nach unten ausgebogen. Wurden die Halme am oberen Wall durchgeschnitten, so kam es zu einer Schnellkrümmung.

Der eingenommene Winkel ist jedoch nicht allein durch Schnellen im Knoten erreicht worden, sondern ein großer Teil ist dem Ausgleich der im Internodium mechanisch eingetretenen Biegung zuzuschreiben.

Es wurden daher zunächst die Ausbiegungswinkel bestimmt, was nach der oben angegebenen Methode durch Anlegen von weißem Kartonpapier geschah, und dann erst der Halm durchgeschnitten. Von dem jetzt erhaltenen Winkel wurde der Ausbiegungswinkel abgezogen und auf diese Weise der durch Schnellen im Knoten erreichte erhalten. Nur dieser ist in den Versuchen angegeben. Ob De Vries (II, S. 482), der bei *Avena* Schnellwinkel bis 25° erhielt, diese Ausbiegung beobachtet hat, mag dahingestellt bleiben. Ein Umgipsen des Knotens machte die Hervorwulstung und zugleich auch die Ausbiegung unmöglich. Jetzt wurde naturgemäß ein Druck gegen die Gipshülle ausgeübt. Wurde dann der Knoten aus dem Gipsverband befreit, so trat ebenfalls eine Schnellkrümmung ein.

Die Schnellkrümmung wurde bei Grasknoten ebenso rasch ausgeführt wie bei den Stengeln. Bei den eingegipst gewesenen ging sie etwas langsamer vor sich, nach 30—60 Minuten war die Krümmung jedoch meist beendet. Die Versuche zeigen uns, daß durch die Schnellkrümmung nicht so große Winkel erreicht werden, wie sie durch die freie Emporkrümmung eingenommen werden, doch wurden bei solchen Knoten, die in der Gipsbrücke gehemmt waren, immer noch größere Werte erreicht als bei den total eingegipst gewesenen.

Auf die Mechanik der Schnellkrümmung brauche ich weiter nicht einzugehen, denn die bei Verhinderung der Krümmung im Knoten sich geltend machenden Wachstumsvorgänge und die daraus sich ergebenden Spannungszustände, sowie deren Ausgleich, sind von Pfeffer (I, S. 400 ff.) sehr genau studiert worden. Ich darf daher auf seine Ausführungen verweisen.

Abschnitt IX.

Der Ausgleich der Spannungen bei Wurzeln.

Bis jetzt ist meines Wissens in der Literatur nichts über eine plötzliche Abwärtskrümmung der Wurzeln nach dem Befreien aus der horizontalen Zwangslage zu finden. Nur Sachs (II, S. 446), spricht einmal davon, daß sich bei Wurzeln, die 24 oder 48 Stunden in lockerer Erde geotropisch gekrümmt waren, nach dem Herausziehen die Krümmung plötzlich etwas verflachte. Er deutet das so, daß die Zellen der Unterseite, welche anfangs etwas langsamer wuchsen als die der Oberseite, nachträglich von neuem stärker gewachsen sind. Dadurch stemmt sich die untere Partie der Wurzel gegen die Erde, die ihrerseits wieder die angestrebte Ausgleichung der Krümmung verhindert. Diese Erscheinung soll jedoch selten vorkommen „wegen der geringen und sehr unvollkommenen Elastizität der Wurzel, die es bedingt, daß der ihr durch den Widerstand des Bodens aufgezwungene

Zustand ein dauernder wird.“ Diese von Sachs geschilderte Beobachtung läßt deutlich erkennen, daß in der Wurzel Spannungen zum Ausdruck gekommen sein müssen, die nach dem Herausziehen aus der Erde mechanisch ausgeglichen worden sind. Diese Beobachtung bestärkte mich daher in der Meinung, daß auch umgekehrt, wenn die Abwärtskrümmung verhindert wird, solche Spannungsunterschiede zustande kommen müßten.

Die Abwärtskrümmung der Wurzeln wurde dadurch verhindert, daß ich sie in Glasröhrchen, die etwa 5—6 mm im Durchmesser hatten, einführte, nachdem sie in Sägespänen bis zu einer Länge von 20 bis 30 mm herangewachsen waren. Die Glasröhrchen hatte ich mit Fließpapier ausgelegt. Zu dem Zwecke wurde ein gleichlanges Stück Fließpapier etwa zweimal so zusammengerollt, daß es bequem in das Röhrchen geschoben werden konnte. Mit einem dünnen Glasstab wurde dann die Rolle an die Wände angedrückt, wobei natürlich Faltungen vermieden werden mußten. Dann wurden die Röhrchen zum Anfeuchten ins Wasser gelegt. Die zum Versuch verwendeten Wurzeln wurden vorher von den anhaftenden Sägespäneteilchen sorgfältig durch Spülen in Wasser befreit und etwa 15 mm weit in die Röhrchen geschoben, da die wachsende Zone bei den meisten Wurzeln nach Sachs (III, S. 730) und Pfeffer (II, S. 10) etwa 10 mm beträgt. An der Stelle, wo die Wurzeln aus den Röhrchen herausragten, wurde mit Tusche ein Strich aufgezeichnet, um den Zuwachs messen zu können. Die Röhrchen wurden dann in einer mit feuchten Sägespänen angefüllten Schale horizotal gelegt. Der überstehende basale Teil der Wurzeln und der Samen wurden mit Sägespänen bedeckt. Die Schale stand im Wärmezimmer bei einer Temperatur von 24° C. Nach einem Tage wurden die Wurzeln vorsichtig aus den Röhrchen herausgezogen und zum Messen des Zuwachses auf ein Papier mit Millimetereinteilung gelegt. Dann kamen sie in eine Schale mit Wasser, worauf gewöhnlich sofort eine Abwärtskrümmung der Spitze eintrat. Die Krümmung wurde auf die Weise aufgezeichnet, daß die Samen an einen Kork gesteckt wurden, der an einem Stativ vor der Zeichencamera befestigt war. Es wurde die konvex gewordene Oberseite abgezeichnet. Die Bestimmung der Krümmungsradien geschah nach der früher angegebenen Methode. Einige Besonderheiten sind in den einzelnen Versuchen noch angegeben.

Zunächst stellte ich einige Versuche an, die die Art der Abwärtskrümmung bei ungehinderten Wurzeln in Luft darlegen sollten.

Versuch 48.

Vier Wurzeln von *Vicia Faba* waren mit feuchtem Fließpapier umhüllt worden. Das vordere Ende von etwa 15 mm ragte frei daraus

hervor. Die Wurzeln wurden mit Nadeln auf einen Kork in horizontaler Lage festgesteckt und auf einen Teller gestellt, über den eine mit feuchtem Fließpapier ausgelegte Glasglocke gestülpt war. Die Lage der Wurzelspitze wurde durch eine in den Kork gesteckte Nadel markiert. Nach 22 Stunden war die Abwärtskrümmung beendet. Die Spitze bildete jedoch mit der Vertikalen einen Winkel, hatte sie also nicht ganz erreicht. Die Umbiegung war da erfolgt, wo sich beim Ansetzen des Versuches die Spitze befand. Als Durchschnittswerte ergaben sich für:

die ursprüngliche Länge 24,5 mm,
den Zuwachs 24,7 mm = 100,8%,
die Länge des Krümmungsradius 20 mm.

Die Abwärtskrümmung war in einem ziemlich flachen Bogen erfolgt. Darauf weist auch Sachs schon hin (II, S. 446), indem er sagt: „daß die anfängliche geotropische Krümmung der Wurzeln in Luft und Wasser sich während des weiteren Wachstumsverlaufes oft stark abflacht, zuweilen sogar fast gerade wird.“ In dieser Abflachung sieht Simon (1912, S. 90) einen nachträglichen Ausgleich der geotropischen Krümmung.

Um den Unterschied der Krümmung in einem festen Medium kennen zu lernen, ließ ich im folgenden Versuch Wurzeln von *Vicia Faba* in Sägespänen abwärts wachsen.

Versuch 49.

Sechs Wurzeln von *Vicia Faba* wurden in einem mit feuchten Sägespänen angefüllten Kasten hinter einer Glaswand horizontal gelegt und die Lage der Spitze durch eine außen aufgeklebte Papiermarke bezeichnet. Nach 23 Stunden waren die Wurzeln abwärts gekrümmt. Die Krümmung lag direkt unterhalb der aufgeklebten Marke. Nachdem die Spitze bis zur Vertikalen umgebogen war, war der weitere Zuwachs in dieser Richtung erfolgt. Als Durchschnittswerte ergaben sich für:

die ursprüngliche Länge 19,7 mm,
den Zuwachs 21 mm = 106,5%,
die Länge des Krümmungsradius 13,5 mm.

Man sieht, daß in Sägespänen die Krümmung eine viel intensivere war, der Krümmungsradius war im Durchschnitt kleiner. Auch der Zuwachs war ein größerer als im vorhergehenden Versuch.

Nunmehr wurden die Wurzeln nach der angegebenen Methode an der Abwärtskrümmung gehindert. Wie aber die beiden vorhergehenden Versuche gezeigt haben, konnten hierbei keine Kontrollwurzeln angesetzt werden, da sich die Krümmung je nach dem Medium verschieden verhält. Es mußte daher auf einen Vergleich mit einer

freien Krümmung verzichtet werden. Die Ergebnisse sind in der Tabelle VIII zusammengestellt, in der ebenfalls Durchschnittswerte eingetragen sind.

Tabelle VIII.

Versuch	Objekt	Anzahl	Versuchsdauer	Urspr. Länge	Zuwachs	Länge d. Krümmung	Länge des Krümmungsradius
50	Vicia Faba	6 Stück	22 Std.	25 mm	28,7 = 114,8 %	26 mm	14 mm
51	Vicia Faba	5 =	23 =	24,8 =	21,8 = 87,9 %	20,8 =	10 =
52	Lupinus albus kleinsamig	6 =	23 =	33,6 =	21,6 = 64,2 %	23,3 =	14 =
53	Lupinus albus großsamig	5 =	22 =	27 =	23,8 = 88 %	23,2 =	7,2 =
54	Lupinus albus großsamig	6 =	23 =	38 =	24,5 = 64,4 %	26,2 =	8,5 =
55	Ricinus comm.	9 =	24 =	16,5 =	12,3 = 74,5 %	13,9 =	8,5 =
56	Zea Mays	8 =	20 =	25 =	18,7 = 74,8 %	27,2 =	9,6 =

Durch diese Versuche, die mit einer Anzahl von Wurzeln dikotyler Pflanzen sowohl als auch mit *Zea Mays*, einem Vertreter des monokotilen Typs, ausgeführt worden sind, ist bewiesen, daß auch Wurzeln bei geeigneter Versuchsanordnung befähigt sind, nach dem Befreien aus der horizontalen Zwangslage sofort eine Abwärtskrümmung auszuführen. Diese erfolgt aber nicht plötzlich, sondern geht langsamer, mehr allmählich vor sich. Innerhalb 5 Minuten ist sie jedoch meist beendet. Es sind also auch bei Wurzeln in der horizontalen Zwangslage Spannungsunterschiede zwischen Ober- und Unterseite ausgebildet worden, deren Entstehung analog den Spannungsunterschieden bei horizontal gehaltenen Stengeln zu denken ist, nur befindet sich bei Wurzeln die Oberseite in Druckspannung und die Unterseite in Zugspannung. Da die Abwärtskrümmung gewöhnlich erst nach Einlegen der Wurzeln in Wasser sich vollzieht, so dürfte sie vermutlich auf einer Steigerung der Turgeszenz der an der Mechanik der Krümmung beteiligten Zellen beruhen, woraus man schließen kann, daß der Druckspannung der Zellen der Oberseite ein größerer Anteil an der Krümmungsbewegung zugesprochen werden muß, als der Zugspannung der Zellen der Unterseite.

Die Krümmung erstreckt sich fast über die gesamte Länge des in der Versuchszeit erfolgten Zuwachses. Dieser hat während der Zeit der Horizontallage alle Phasen der Streckung durchgemacht und ist schließlich auch in den ausgewachsenen Zustand übergegangen.

Es hat sich also nicht nur die noch wachstumsfähige Zone an der Abwärtskrümmung beteiligt, sondern auch noch ein großes Stück, das schon ausgewachsen war. Die Spannungen sind also auch in den ausgewachsenen Partien noch erhalten geblieben. Dies wurde auch wie bei Stengeln (S. 120) durch den Ausgleich der Krümmung konstatiert, der nur in der Spitzenzone erfolgt war.

Die Gestalt der Krümmung ist ebenfalls parabelförmig. In der am stärksten wachsenden Spitzenzone befindet sich die stärkste Krümmung mit dem kürzesten Krümmungsradius. Die Krümmung war oftmals so stark, namentlich bei *Lupinus albus* und *Ricinus communis*, daß die Spitze hakenförmig umgebogen war. Nach der Basis zu verflacht sich die Krümmung mehr und mehr. Da in einer Wurzel sich die verschiedenen Querzonen alle einmal in einer optimalen Wachstumstätigkeit befunden haben, müssen in jeder Querzone gleichstarke Spannungsunterschiede zur Entwicklung gekommen sein. Wären nun diese in ihrer vollen Stärke erhalten geblieben, so hätte die Abwärtskrümmung eine mehr kreisförmige Gestalt haben müssen. In der Spitzenzone ist das ja auch tatsächlich der Fall. Wie wir aber gesehen haben, findet nach dem basalen Teil zu eine Abnahme der Krümmung statt. Es müssen daher mit der Zeit gewisse innere Veränderungen sich geltend gemacht haben. In diesen Veränderungen sieht Sachs (II, S. 457) ein nachträgliches Wachstum der Zellen der Unterseite, wodurch ein Entspannen erzielt wird, das nach seinen Beobachtungen soweit geht, daß die Wurzel nach dem Befreien gerade bleibt. Simon (1912, S. 151) nimmt an, daß die durch das Dickenwachstum produzierten Zellen eine Entspannung in der Wurzel bewirken, welche mit dem Hinzukommen neuer Gewebe immer mehr vorwärts schreitet. Ob nicht auch mit dem Alter eine Zunahme der Dehnbarkeit der Wandungen eintritt, die ein Nachgeben der elastisch gedehnten Wandungen der Zellen der Unterseite herbeiführt, bleibt noch dahingestellt. Es geht ja bekanntlich in einer Wurzel die spröde und biegungsstarre Spitzenzone in eine ganz biegsame über, wovon man sich durch künstliche Biegung leicht überzeugen kann. (Vgl. hierzu auch Sachs III, S. 752.)

Die Versuche ließen weiterhin erkennen, daß sich die Abwärtskrümmung nach einiger Zeit entweder am Klinostaten oder auch in vertikaler Stellung wieder ausglich, jedoch nur in der noch wachstumsfähigen Spitzenzone. Ob mit der Zeit auch die älteren Teile ihre Krümmung wieder ausgleichen, wie dies neuerdings Simon (1912, S. 139) beobachtet hat, konnte ich nicht feststellen, da ich meine Versuche nicht auf so lange Zeit ausdehnte. Es dürften sich aber die durch die angegebene Methode erhaltenen Krümmungen sehr gut zum weiteren Studium dieser Frage eignen.

Beim Abtöten der Wurzeln in heißem Wasser ging die realisierte Abwärtskrümmung nicht wieder zurück, sie war also durch Wachstum fixiert worden.

Es wurden nun noch einige Versuche mit Röhrchen ohne Fließpapier angestellt. Ich wollte dadurch erfahren, ob die Reibung an dem Fließpapier die Wirkung des geotropischen Reizes verstärkt, wie dies Sachs (II, S. 437) und Pfeffer (I, S. 373) annehmen, oder ob die günstigen Resultate nur auf eine bessere Bewässerung zurückzuführen waren. Es muß aber gleich hier erwähnt werden, daß ich zu keinem einwandfreien Ergebnis gelangt bin.

Die Röhrchen wurden kurz vor dem Einführen der Wurzeln durch Eintauchen in Wasser angefeuchtet, wobei auch einzelne Tropfen in ihnen hängen blieben. Die übrige Versuchsanordnung war dieselbe, wie auf Seite 143 angegeben. Die Versuche sind in der Tabelle IX zusammengestellt, in der ebenfalls nur die Durchschnittswerte aus einer größeren Anzahl gleichwertiger Versuche eingetragen sind.

Tabelle IX.

Versuch	Objekt	Anzahl	Versuchsdauer	Urspr. Länge	Zuwachs	Länged. Krümmung	Länge des Krümmungsradius
57	Vicia Faba	8 Stück	23 Std.	35 mm	20,6 = 58,8%	20 mm	17,5 mm
58	Lupinus albus großsamig.	6 „	23 „	34,3 „	25 = 72,8%	21,2 „	10 „

Die Versuche haben ergeben, daß diese Wurzeln ebenfalls eine Abwärtskrümmung ausführten, doch war die Krümmung nicht so intensiv wie bei den früheren Versuchen. Der Krümmungsbogen mit dem kleinsten Krümmungsradius war bedeutend kürzer, und der Krümmungsradius war im Durchschnitt einige Millimeter länger. Weitere Untersuchungen nach dieser Richtung hin wurden nicht angestellt. Es muß also die Frage offen bleiben, ob das Auslegen der Röhrchen mit Fließpapier und damit das Zustandekommen einer stärkeren Reibung den angedeuteten Einfluß hat, oder ob nur eine bessere Bewässerung die günstigen Resultate erzielen ließ.

Einige angestellte Versuche mit vollständig eingegipsten Wurzeln, die einen Tag lang horizontal lagen, bestätigten die Angaben Pfeffers (I, S. 416), daß die Wurzeln weder sogleich nach dem Befreien, noch nach Injektion mit Wasser eine Abwärtskrümmung ausführen. Damit ist aber noch nicht gesagt, daß im Gipsverband der geotropische Reiz keine Wachstumsvorgänge ausgelöst hat, wie dies Czapek (1895, S. 28) annimmt. Pfeffer erklärt diese Erscheinung so (I, S. 320), daß in dem aktiven Spitzenteil die Interzellularen ziemlich klein sind

und in dem ebenfalls aktiven Urmeristen gänzlich fehlen. Dadurch wird zugleich von innen eine völlige Widerlage geschaffen und ein Ausbiegen im Innern unmöglich gemacht. Wir müssen annehmen, daß das Flächenwachstum nach Entspannung der Zellhaut nicht weiter fortgesetzt wird. Es können daher in einer eingegipsten Wurzel auch nur geringe Spannungen auftreten, die eine Schnellkrümmung nicht bewirken können.

Abschnitt X.

Der Ausgleich mechanischer Krümmungen.

Zum Schluß seien noch einige Versuche mitgeteilt, die sich mit dem Ausgleich der Spannungen befassen, die durch künstliche Biegung rein mechanisch entstanden waren. Solche Versuche sind auch schon von Sachs (III. S. 753 ff.) ausführlich beschrieben worden, und es sei daher gleichzeitig auf seine Aufzeichnungen hingewiesen.

Die Versuche wurden mit Hypokotylen ausgeführt. Unterhalb der Kotyledonen war eine Lederschlinge angebracht, an der ein Zwirnsfaden befestigt war. Eine Rolle, über die dieser Faden geleitet wurde, war ungefähr in der Höhe des Topfrandes an einem daneben stehenden Stativ befestigt. Die Spannung des Fadens wurde durch kleine Bleikugeln erreicht, die zur Vermeidung einer ruckweisen Biegung vorsichtig ohne große Erschütterung auf eine am Ende des Fadens befindliche Pappschale gelegt wurden. Auf diese Weise wurde das Hypokotyl, welches vertikal stand, allmählich über eine Glasröhre gebogen. Nach einiger Zeit durchschnitt ich die Lederschlinge und das Hypokotyl schnellte wieder empor. Die Versuche waren vor der Zeichencamera aufgestellt, so daß jederzeit bequem die Lage des Hypokotyls abgezeichnet und vor allem der Verlauf der Aufkrümmung genau beobachtet werden konnte.

Die Versuche ließen erkennen, daß die einer Pflanze durch gewaltsames Biegen aufgenötigte Krümmung nicht beibehalten wird, vielmehr schnellt nach dem Befreien von der biegenden Kraft die Pflanze momentan wieder zurück. Durch das gewaltsame Biegen ist jedoch im Gegensatz zu den bisherigen Versuchen die konkave Seite zusammengepreßt, die konvexe ausgedehnt worden. Letztere hat sich in Zugspannung befunden und hat infolge der Elastizität der Wandungen dem gewaltsamen Ausdehnen durch Biegen einen Widerstand entgegengesetzt. Nach Beseitigung der biegenden Kraft sucht sie sich auf die ihr zukommende Länge wieder zurückzuziehen. Die konkave Seite dagegen hat sich in Druckspannung befunden. Sie ist zusammengepreßt worden und ist bestrebt, sich wieder auszudehnen. Wir treffen also hier dieselben Erscheinungen an, wie bei einer an der geotropischen Krümmung gehinderten Pflanze. Der Unterschied

besteht nur in der Entstehung der Spannungen. Bei der Verhinderung der geotropischen Krümmung wurden diese durch die verschiedene Wachstumstätigkeit der antagonistischen Seiten erzeugt, hier sind sie rein mechanisch durch eine von außen wirkende Kraft entstanden. Der Ausgleich der Spannungen ist aber beide Male ein rein mechanischer Vorgang, der einmal zu einer Krümmung führt, die sich allmählich verstärkt, das andere Mal ein Geradestrecken anstrebt. Freilich wird diese Geradestreckung nicht vollkommen erreicht. Nach einem momentanen Zurückschnellen verlangsamt sich die Bewegung und bleibt schließlich stehen. In diesem Augenblick sind die künstlich erzeugten Spannungen wieder aufgehoben. Daß die Ausgangslage nicht wieder ganz erreicht wird, mag daran liegen, daß durch das gewaltsame Biegen Zerrungen und Dehnungen über die Elastizitätsgrenze hinaus erfolgt sind, worunter Sachs innere, zum Teil bleibende Veränderungen versteht. Bei der Verhinderung der geotropischen Krümmung konnten wir eine Überdehnung der Oberseite durch die Wachstumsvorgänge in der Zwangslage nicht konstatieren. Bei der künstlichen Biegung ist also eine Verlängerung der Zellwände der konvexen Seite eingetreten, die zunächst beibehalten wird. Mit der Zeit tritt dann in den noch wachstumstätigen Zonen eine entsprechende Gegenreaktion ein, die je nach der Versuchsanstellung am Klinostaten oder durch Vertikalstellung selbstregulatorisch auftritt oder durch die Einwirkung des Geotropismus hervorgerufen wird. Dadurch wird die Krümmung wieder ausgeglichen. In ausgewachsenen Partien, wie dies in der gekrümmten Basalzone beobachtet werden konnte, bleibt von der aufgedrängten Krümmung gewöhnlich ein Stück erhalten.

Es wurden dann noch einige Versuche mit Wurzeln nach der von Sachs (II, S. 393) angegebenen Weise ausgeführt und dieselbe Beobachtung gemacht, daß nämlich die künstliche Krümmung nicht wieder vollkommen ausgeglichen wird. Die Versuche wurden mit Wurzeln von *Vicia Faba* und *Lupinus albus* angestellt. Die Wurzel war in einer hinter der Wachstumszone gelegenen Partie am stärksten gekrümmt. Wurde sie befreit, so schnellte sie sogleich wieder der Ausgangsstelle zu. Die Rückkrümmung ging erst plötzlich vor sich, um dann immer langsamer zu werden. Schließlich blieb sie ein ganzes Stück vor der Ausgangsstellung stehen. Sachs meint, daß „während des Biegens innere, zum Teil bleibende Veränderungen stattfinden, die sehr rasch, wie es scheint, im Augenblick der Krümmung selbst, und zwar vorwiegend in der jüngeren, aber vollkommen ausgewachsenen Region auftreten.“ Diese inneren Veränderungen bestehen nach meiner Meinung in einer Überdehnung über die Elastizitätsgrenze. Durch den Vorgang wird somit angedeutet, daß die Elastizität der Wurzeln eine sehr unvollkommene ist.

Nach Fertigstellung der vorliegenden Arbeit erschien die schon mehrfach angeführte Abhandlung von Simon: „Untersuchungen über den autotropischen Ausgleich geotropischer und mechanischer Krümmungen der Wurzeln", die jedoch während der Versuche nicht mehr berücksichtigt werden konnte. In dem Abschnitt VI „Der Ausgleich mechanischer Krümmungen" ist u. a. dargelegt, daß die in ausgewachsenen Zonen gekrümmten Wurzeln nach ihrer Befreiung nur einen kleineren Teil sogleich elastisch wieder ausgleichen, was also auch mit meinen Beobachtungen übereinstimmt. Des weiteren hat dann Simon festgestellt, daß im Verlauf der folgenden Tage auch die noch restierenden Krümmungen einen mehr oder weniger starken Rückgang erfahren können. Er spricht die Vermutung aus, daß es sich bei einem derartigen Rückgang um rein elastische Nachwirkungen handelt. Da meine Versuche nicht auf so lange Zeit ausgedehnt wurden, konnte ich die nachträgliche Rückkrümmung nicht beobachten.

Zusammenstellung einiger Ergebnisse.

Wurde eine Pflanze in der horizontalen Zwangslage festgehalten und nach einiger Zeit befreit, so schnellte sie sofort ein beträchtliches Stück empor. Die Emporkrümmung erreichte dabei jedoch nicht momentan ihren Endwert, sondern von einem gewissen Zeitpunkte an verlangsamte sich die Bewegung, bis sie schließlich ganz nachließ. Diese Schnellbewegung ist als ein mechanischer Ausgleich der in der Pflanze durch Verhinderung der geotropischen Krümmung entstandenen Spannungsunterschiede anzusehen. Diese sind Folgeerscheinungen verschiedener Wachstumstätigkeit in den opponierten Seiten. Die Oberseite ist in Zugspannung, die Unterseite in Druckspannung versetzt worden. Nach dem Befreien von dem Hemmnis dehnte sich die zusammengepreßte Unterseite aus und die ausgedehnte Oberseite zog sich zusammen.

Die Form der Schnellkrümmung war nicht die eines Kreisbogens, sondern es gab eine Stelle mit einem kleinsten Krümmungsradius, die mit der Zone des intensivsten Längenwachstums zusammenfiel. Man kann die Form der Schnellkrümmung mit der einer Parabel vergleichen, deren Scheitel in der am stärksten wachsenden Zone liegt.

Im allgemeinen erstreckte sich eine Schnellkrümmung genau soweit basalwärts wie eine freie Krümmung. In der Basalzone war erstere jedoch bedeutend weniger intensiv. Hier waren daher nur geringere Spannungen zur Entwicklung gekommen. Die Zunahme der Elastizität der Wandungen und die Abnahme der Wachstumsintensität sind dabei mitwirkende Faktoren, die bei einigen Pflanzen das Auftreten stärkerer Spannungen und deren Ausgleich auf einer längeren Basalstrecke ganz unmöglich machen.

Waren die Spannungen einmal ausgebildet, so blieben sie bestehen, auch wenn die betreffende Stelle inzwischen ausgewachsen war. Es beteiligten sich dann auch ausgewachsene Partien am Schnellen.

Wie eine freie Krümmung, so konnte auch eine Schnellkrümmung durch Einwirken eines neuen geotropischen Reizes wieder ausgeglichen werden. Der Ausgleich erfolgte aber nur dann, wenn in der betreffenden Zone das Längenwachstum noch nicht erloschen war. War dies der Fall, wie z. B. in der Basalzone, so blieben beide Krümmungen an dieser Stelle erhalten.

Bei etiolierten Hypokotylen konnte festgestellt werden, daß die Schnellkrümmung bisweilen bedeutend intensiver ausgeführt wurde als bei grünen. Der Grund hierfür wurde in der intensiveren Wachstumstätigkeit und der Beschaffenheit der Gewebe gesehen, die eine Ausbildung von stärkeren Spannungen bewirkte. Aus der Länge der Wachstumszone mit gleicher Intensität ergab sich eine gedrungenere Form der Krümmung. In einem Versuch mit *Lupinus albus* hatte sie ungefähr die Gestalt eines Kreisbogens.

Bei abgeschnittenen Sprossen wurde nachgewiesen, daß sich die Schnellkrümmung aus zwei Teilen zusammensetzt. Der eine Teil stellt den rein mechanischen Ausgleich der Spannungen dar, der mit großer Heftigkeit einsetzt und in der elastischen Nachwirkung ausklingt. Der andere Teil, der erst später zur Geltung kommt, beruht auf geotropischer Nachwirkung. Letztere ist auf neues Wachstum zurückzuführen.

Total eingegipste Pflanzen führten nach dem Befreien aus der Zwangslage eine weniger starke Schnellkrümmung aus. Dadurch wird jedoch angedeutet, daß auch bei vollständiger mechanischer Hemmung in der Pflanze Spannungen entstanden sind. Bei diesen Versuchen war ein längeres Stück an der Basis gerade geblieben.

Die Versuche mit halbierten Sprossen ließen erkennen, daß die primär vorhandene Gewebespannung nach dem Halbieren in der oberen Hälfte fördernd auf die Schnellkrümmung einwirkt, während sie in der unteren Hälfte die Krümmung hemmt.

Durch einsetzende innere Wachstumsvorgänge wurde ein Ausgleich der Spannungen ohne Schnellkrümmung erzielt. Dies wurde durch Drehung der Objekte um 180° und am Klinostaten erreicht. In letzterem Falle waren die Wachstumsvorgänge autotropischer Natur, sie waren als Auslösung des Reizes anzusehen, der durch die Spannungen in der Pflanze neu geschaffen worden ist.

Durch Messungen mit dem Horizontalmikroskop wurde bei *Silphium Hornemannii* die absolute Verlängerung der Unterseite und die absolute Verkürzung der Oberseite nach dem Schnellen konstatiert. Die Frage, ob in der horizontalen Zwangslage eine Ausbauchung in

der unteren Hälfte stattfindet, konnte nicht befriedigend beantwortet werden.

Die verwendeten Knotenpflanzen glichen nach dem Befreien von dem Hemmnis die Spannungen ebenfalls in einer Schnellkrümmung aus, die anfangs plötzlich erfolgte und dann schließlich in die Endstellung überführte. Es wurden jedoch nicht so starke Krümmungen erhalten, wie sie bei ungehinderten Pflanzen in derselben Zeit angetroffen werden. Bei der Hemmung durch totales Eingipsen fielen sie noch schwächer aus. Nach Abtöten der Pflanzen ging die Schnellkrümmung nicht zurück.

Auch die Wurzeln führten bei geeigneter Versuchsanstellung nach dem Befreien von dem Hemmnis eine plötzliche Abwärtskrümmung aus, die einer Schnellkrümmung gleichkam. Sie war nach wenigen Minuten beendet. Auch hier beteiligten sich ausgewachsene Partien am Schnellen. Total eingegipte Wurzeln krümmten sich nach dem Befreien nicht abwärts.

Die zum Schlusse angeführten Versuche mit gewaltsam gebogenen Hypokotylen und Wurzeln bestätigten die Angaben von Sachs. Bei dem Ausgleich der entstandenen Spannungsunterschiede handelte es sich, wie auch bei den durch Verhinderung der geotropischen Krümmung hervorgerufenen, um einen rein physikalischen Vorgang. Die Krümmung wurde zunächst plötzlich ausgeführt und ging dann schließlich in langsamere Bewegung über. Die Ausgangslage wurde jedoch nicht ganz wieder erreicht, da durch das gewaltsame Biegen die Elastizitätsgrenze überschritten worden war.

Literatur.

(Die hier angegebenen Seitenzahlen beziehen sich auf den Anfang der Arbeiten in den betr. Zeitschriften.)

Ball, Der Einfluß von Zug auf die Ausbildung von Festigungsgewebe. Jahrb. f. wiss. Botanik. Bd. 39. 1904. S. 305.

Baranetzky, Über die Ursachen, welche die Richtung der Äste und Straucharten bedingen. Flora. Erg.-Bd. 1901. S. 138.

Barth, Die geotropischen Wachstumskrümmungen der Knoten. Inaug.-Dissert. Leipzig 1894.

Bücher, Anatomische Veränderungen bei gewaltsamer Krümmung und geotropischer Induktion. Jahrb. f. wiss. Botanik. Bd. 43. 1906. S. 271.

Czapek, Untersuchungen über Geotropismus. Jahrb. f. wiss. Botanik. Bd. 27. 1895. S. 243.

De Vries (I), Sur les causes des mouvements auxotoniques des organes végétaux. Archives Néerlandaises 1880. Tome XV.

— (II), Über die Aufrichtung des gelagerten Getreides. Landwirtschaftl. Jahrbücher 1888. Bd. 9. S. 473.

— (III), Über die Dehnbarkeit wachsender Sprosse. Arbeiten des botanischen Instituts in Würzburg. Bd. I. 1874. S. 519.

Fitting, Untersuchungen über den Haptotrophismus der Ranken. Jahrb. f. wiss. Botanik. Bd. 38. 1903. S. 545.

Hallbauer, Über den Einfluß allseitiger mechanischer Hemmung durch einen Gipsverband auf die Wachstumszone und die innere Differenzierung der Pflanzen. Inaug.-Dissert. Leipzig 1909.

Kohl, Die Mechanik der Reizkrümmungen. Marburg 1894.

Kraus, Die Gewebespannung des Stammes und ihre Folgen. Botanische Zeitung 1867. Bd. 25. S. 105.

Meischke, Über die Arbeitsleistung der Pflanzen bei der geotropischen Krümmung. Jahrb. f. wiss. Botanik. Bd. 33. 1899. S. 337.

Miehe, Über correlative Beeinflussung des Geotropismus einiger Gelenkpflanzen. Jahrb. f. wiss. Botanik. Bd. 37. 1902. S. 527.

Noll, Beitrag zur Kenntnis der physikalischen Vorgänge, welche den Reizkrümmungen zu Grunde liegen. Arbeiten d. botanischen Instituts in Würzburg. Bd. III. 1888. S. 496.

Ohno, Über das Abklingen von geotropischen und heliotropischen Reizvorgängen. Jahrb. f. wiss. Botanik. Bd. 45. 1908. S. 601.

Pfeffer (I), Druck und Arbeitsleistung durch wachsende Pflanzen. Bd. 20 der Abhandl. d. math.-phys. Klasse d. Kgl. Sächs. Gesellschaft d. Wissenschaften. 1893. S. 235.

— (II), Pflanzen-Physiologie. 2. Aufl. 1904. Bd. II.

— (III), Der Einfluß von mechanischer Hemmung und von Belastung auf die Schlafbewegungen. Bd. 32 d. Abhandl. d. math.-phys. Klasse der Kgl. Sächs. Gesellsch. d. Wiss. 1911. S. 163.

Sachs (I), Längenwachstum der Ober- und Unterseite horizontal gelegter und sich aufwärts krümmender Sprosse. Arbeiten d. botan. Instituts in Würzburg. Bd. I. 1874. S. 193.

— (II), Über das Wachstum der Haupt- und Nebenwurzeln. Arbeiten d. botan. Instituts in Würzburg. Bd. I. 1874. S. 385.

— (III), Lehrbuch der Botanik. 4. Aufl. 1874.

Schtscherback, Die geotropische Reaktion in gespaltenen Stengeln. Beihefte zum bot. Zentralblatt. Bd. 25. 1910. S. 358.

Simon, Untersuchungen über den autotropischen Ausgleich geotropischer und mechanischer Krümmungen der Wurzeln. Jahrb. f. wissensch. Botanik. Bd. 51. 1912. S. 81.

Wiedersheim, Studien über photonastische und thermonastische Bewegungen. Jahrb. f. wiss. Botanik. Bd. 40. 1904. S. 230.

Wiesner, Das Bewegungsvermögen der Pflanzen. 1881.

Physiologisch-systematische Untersuchungen über die Verwandtschaften der Angiospermen.

Von **Carl Mez** und **Kurt Gohlke**.

Unser System ist durch induktiven Vergleich, durch Zusammenstellung des Ähnlichen und Abtrennung des Unähnlichen entstanden. Im Bewußtsein dessen, daß alle die Urteile, welche zur Systembildung geführt haben, auf subjektiven Gefühlen von Ähnlichkeit und Unähnlichkeit basieren, wurde neuerdings von mehreren Seiten versucht, auf andere als die bisher für wichtig gehaltenen Ähnlichkeiten hin das System auszubauen, abzuändern, umzustürzen. Ganz allgemein wurden phylogenetische Anschauungen eingeführt und bewußt vertreten: die Systematiker, welche im System nur das Fachwerk zum Unterbringen ihrer Studienobjekte sahen, sind ausgestorben.

So ist eine Gährung in unserer Wissenschaft zu beobachten, die immer dringender nach Klärung verlangt. Mit am undurchsichtigsten sind die phylogenetischen Verhältnisse zwischen den Formenkreisen der Phanerogamen. Immerhin hat die neue Bewegung in der Systematik, nicht zum wenigsten auf die in Einzelheiten oft phantastischen Darlegungen Halliers hin, den Fundamentalsatz aufgestellt, daß die Phanerogamen eine große Reduktionsreihe darstellen. Teils Folgerung hieraus teils weitere Erkenntnis sind die Sätze, daß 1. die Ranales die primärsten Angiospermen sind; 2. daß die Monocotylen vom Dicotylenstamm abzweigen; 3. daß die Sympetalen nicht monophyletisch sind.

Alles andere aber liegt in jedem Detail bisher unklar. Ob die Gymnospermen mono- oder pleiophyletisch; ob die Monocotylen tief unter den Ranales oder in der Nähe der Magnoliaceen abzweigen; wie die Reihen der Archichlamydeen an die Ranales ansetzen; wie die Formen mit einfachen und bisher allermeist als primär angesehenen Blüten von den mit reich entwickelten versehenen abzuleiten und die dadurch charakterisierten Reihen einigermaßen wahrscheinlich unterzubringen sind: das alles ist umstritten und jede Meinung vermag, da sie im wesentlichen auf systematischem „Gefühl“ beruht, mit Gründen gestützt zu werden. Von ungleichem Ausgang unter der

Wirkung gleicher formender Einflüsse hervorgebrachte Ähnlichkeiten — Konvergenzen — müssen notwendiger Weise gerade in Reduktionsreihen häufig sein; die Entscheidung, ob Konvergenz oder wirkliche Verwandtschaft gleiche morphologische Ausbildung bedingt, ist in Fällen, wie sie uns besonders im Reich der Dicotylen so überaus häufig begegnen, vielfach gar nicht zu treffen. Und wo, wie dies bezüglich jedes Darstellers der Gesamtheit des Systems geschieht, eine Entscheidung in solchen Fragen verbis expressis gefordert wird, wo Systematik als Wissenschaft vorzutragen ist, kommt das Bewußtsein des Nebels, der alles umhüllt, besonders stark zum Eindruck.

Dabei haben wir es bei den Angiospermen mit Verhältnissen zu tun, die an sich für den Aufbau eines phylogenetischen Systems nicht einmal besonders ungünstig liegen. Schon die relativ kurze Differenziationszeit unserer höhern Pflanzen (seit der Kreide, also in noch nicht übermäßig weit zurückliegenden Perioden scheint die ganze Verzweigung des Stammbaums vor sich gegangen zu sein) läßt uns die Hoffnung begründet erscheinen, daß wir zu einem wirklich objektiven Ergebnis unserer Studien gelangen können. Vergleicht man damit z. B. den Stamm der Insekten mit seiner so unvergleichlich viel älteren Entwickelung, so tritt der Unterschied zwischen unserem und zwischen zoologischen Systemen klar hervor. Tatsächlich existiert kaum eine Familie der höheren Pflanzen, bezüglich deren nicht begründete Meinungen über ihre nähere und entferntere Verwandtschaft geäußert sind. Und wer jemals versucht hat, die Charaktere der Pflanzenfamilien scharf, definitionsmäßig zu fassen, der weiß, daß die vom Typus abweichenden Formen alle Grenzen verwischen. Dies ist aber ein Hinweis darauf, daß wir heute noch dem Ursprung und der differenziellen Entwickelung der Angiospermen nicht allzu ferne stehen. Wir haben weniger, als dies allermeist geschieht, bei unseren Bemühungen mit ausgestorbenen Formen zu rechnen; wir dürfen mit unserem Urteil die große Zaghaftigkeit, die öfters so wissenschaftlich erscheint, zu überwinden versuchen.

Aus dem Bedürfnis, alles aufzubieten, was irgend geeignet erscheint, die Systematik insbesondere der höheren Pflanzen auf eine festere Basis zu stellen, habe ich im Königsberger botanischen Institut unter meiner Leitung und steten Überwachung eine Sammelforschung über die Eiweiß-Verwandtschaft der höheren Pflanzen ins Werk gesetzt. Die vorliegende Mitteilung stellt eine vorläufige Veröffentlichung der ersten, zusammen mit vier Schülern gewonnenen Ergebnisse dar.

Nachdem es als erstem Uhlenhuth gelungen war, die Eiweißstoffe verschiedener Vogeleier biologisch von einander zu unterscheiden, hatte derselbe Forscher gleichzeitig die Erfahrung gemacht, daß die Eier nahe verwandter Spezies sich auf diesem physiologisch-chemischem

Wege nicht differenzieren lassen. Dieser ersten Verwandtschafts-Feststellung mit Hilfe der Serum-Reaktionen folgten bald die größeres Aufsehen machenden Konstatierungen von Uhlenhuth, Wassermann und Stern, daß die echte „Blutsverwandtschaft" des Menschen mit den Primaten sich durch serologische Methoden erweisen läßt. Bald folgte durch Kowarski der Nachweis, daß auch pflanzliches Eiweiß auf diesem Wege differenziert werden kann; speziell im Interesse der Untersuchung von Nahrungsmitteln und für die Landwirtschaft wichtigen pflanzlichen Rohstoffen wurde die Methode von Mehreren behufs Differenziation und Wiedererkennung einzelner Objekte erprobt und günstig beurteilt.

Die Erfordernisse der biologischen und ärztlichen Praxis, Unterschiede für auf anderem Wege schwer oder nicht unterscheidbare pflanzliche Organismen zu erhalten, beherrschen die ersten ausgesprochen systematischen Versuche auf dem neuen Gebiete: Ohne Erfolg versuchte Schütze Hefearten, Citron die Favus erregenden Trichophyton-Arten serologisch zu differenzieren. Die von Magnus und Friedenthal aufgefundene Eiweiß-Verwandtschaft von Tuber mit Saccharomyces erschien manchen Fachgenossen mehr als Kuriosum wie als positive Erkenntnis, umsomehr, als bei diesen Versuchen die Reaktion zwischen den genannten Formenkreisen nur einseitig und nicht, wie dies logisch notwendig ist, reziprok erfolgte.

Diskreditiert wurde die Methode durch die Veröffentlichung von Mießner, der mit von *Vicia Faba* ausgehend gewonnenem Kaninchen-Immunserum wild durcheinander Reaktionen auf Leguminosen und Gramineen erhalten haben will und dies Ergebnis als sehr beweisend für die Brauchbarkeit der Serum-Diagnostik anpries; die Polemik Dunbars gegen Magnus und Friedenthal folgte; bei Versuchen, auf serologischem Weg die Verwandtschaft von Adoxa zu erklären, hatte Sturm keine Ergebnisse. So konnte das Urteil bezüglich der Methode sich in der Botanik wohl bilden und befestigen, „que le feu ne vaut pas la chandelle".

Unsere ersten und zugleich eingehendsten Untersuchungen waren zunächst auf die Methode an sich zu richten; durch ausgedehnteste Prüfungen mußte zunächst festgestellt werden, ob überhaupt Ergebnisse von einigem Wert erhältlich sind. Dann aber sind durch die medizinische Forschung mehrere Wege gefunden worden, die relativ verschieden und besonders theoretisch recht abweichend sind. Ihre Brauchbarkeit an sich und ihre Verwendbarkeit speziell für unsere botanischen Bedürfnisse mußte zunächst völlig einwandfrei klargestellt werden.

Bei der Auswahl der anzuwendenden Methoden war demnach in erster Linie ihre allgemeine wissenschaftliche Zuverlässigkeit, in zweiter

aber auch besonders ihre Brauchbarkeit für spezielle botanische Zwecke zu berücksichtigen. Es kann nicht übersehen werden, daß zwischen Betrieb und Arbeitsart von botanischen und medizinischen Instituten nicht nur, sondern auch zwischen der speziellen Vorbildung der Arbeitenden wesentliche Differenzen bestehen. Auch muß, in Anbetracht der an sich geringen finanziellen Ausstattung botanischer Institute, auf die Billigkeit der Methode geachtet werden. Ankauf und Unterhalt sowie die nötige höchst penible Wartung der Versuchstiere erfordern Aufwendungen, die nicht unwesentlich das übersteigen, was normal eine botanische Arbeit kostet.

Wegen des unmäßigen Verbrauchs von Versuchstieren mußte zunächst die Methode der Anaphylaxie-Untersuchungen ausscheiden; auch ohne daß die anaphylaktischen Erscheinungen mit Absicht herbeigeführt werden, treten sie leider bei der normalen Immunisation der Tiere oft genug auf und führen zum Verlust von Versuchstieren, auf die nicht nur Kosten, sondern auch, was schwerer wiegt, schon wochenlange Arbeit verwendet worden ist. Wird bedacht, daß bei Anwendung der Anaphylaxie von jeder als Antigen benützten Spezies aus Hunderte von Versuchstieren aufgebraucht werden (wenn sie auch nicht immer sterben, so darf doch der Sauberkeit der Untersuchung wegen kein Tier zum zweitenmal Verwendung finden), so fällt die Verwendung der Anaphylaxie als Arbeitsmethode für botanisch-systematische Zwecke von vornherein weg. Sie wäre aber, selbst wenn diese der Methode innewohnenden Mißstände nicht vorhanden wären, dennoch für den Botaniker nicht geeignet. Denn bei der anaphylaktischen Methode kommt es darauf an, bei den Versuchstieren Krankheitserscheinungen hervorzubringen. Solche können aber vom Botaniker ebensowenig beurteilt werden, wie dieser imstande ist, an einem eingegangenen Tier die Todesursache mit Sicherheit festzustellen.

Auch die Komplement-Bindungsmethode eignet sich nicht für botanische Forschungen. Zunächst erfordert sie zur Bildung der haemolytischen Systeme jeweils noch zwei weitere Versuchstiere anderer Art als das immunisierte; die an sich dem Botaniker fremde Tierhaltung würde demnach noch weiter vergrößert. Ganz besonders aber sind die Ergebnisse der Komplement-Bindungsmethode zu speziell. Mit Hilfe dieser Methode gelingt es am sichersten, das zur Immunisation verwendete Antigen zu diagnostizieren, dagegen versagt sie, wenn das Antigen nicht absolut identisch ist. Sollte, wozu in der Systematik kein allgemeineres Bedürfnis vorliegt, die Frage gelöst werden müssen, ob ein vorliegendes Exemplar oder Teile eines solchen wirklich zu einer bestimmten Spezies gehören, so liefert die Komplement-Bindungsmethode die klarste Antwort. Dagegen versagt sie, wenn es gilt, weitere Verwandtschaftskreise zu umfassen. Daß anderseits die

engste Begrenzung der Wirksamkeit gerade diese Methode für viele Fälle der angewandten Botanik, besonders die Nahrungsmittel-Untersuchung, hervorragend geeignet macht, liegt auf der Hand.

Die beiden anderen noch im Gebrauch stehenden sero-diagnostischen Methoden, die Praezipitation und die Konglutination, sind beide für botanische Untersuchungen geeignet; jede hat ihre besonderen Vorzüge. Die Praezipitation, die älteste dieser Ausarbeitungen, erfordert nur Antigen und Immunserum; sie ist deshalb besonders einfach und wird, selbst wenn die Konglutination als Hauptmethode angewandt wird, mindestens auxiliär stets gebraucht werden. Schon die überaus wichtige Frage, ob bei einem Versuchstier Immunität durch das Antigen erzeugt ist und wie hoch diese Immunität gestiegen ist: mit andern Worten, ob das Versuchstier überhaupt brauchbar geworden ist (was keineswegs immer der Fall ist), diese Frage wird mit Hilfe der Praezipitations-Methode beantwortet. Ein besonderer Vorteil der Praezipitation ist darin zu sehen, daß die Praezipitogene relativ beständig sind, daß also die Verwendung des Serums auf nicht allzu kurze Zeit beschränkt bleiben muß. — Leider haben, was besonders betont sei, unsere Untersuchungen mit pflanzlichen Eiweißarten ergeben, daß die medizinischen Angaben über fast unbegrenzte Haltbarkeit der vor Licht geschützten und im Eisschrank aufbewahrten Immunsera für botanische Zwecke nicht völlig zutreffen. Der medizinischen Forschung sind die für uns maßgebenden Reaktionen in die Ferne nicht geläufig. In dieser Beziehung tritt eine Abschwächung der Wirkung beim Aufbewahren (wie es scheint) immer ein; die entferntesten Verwandtschaften, die mit ganz frischem Serum noch unzweideutig erreicht wurden, vermochten ältere Sera nicht immer erkennen zu lassen. Aber es wird unten zu zeigen sein, daß auf schwache Reaktionen von uns überhaupt keine Schlüsse aufgebaut werden und für die näheren Verwandtschaften (also z. B. von den Magnoliaceae bis zu den Ranunculaceae über Anonaceae, Calycanthaceae, Menispermaceae, Berberidaceae hinweg) reicht auch ein etwas abgeschwächtes Serum immer noch. Dies gilt aber nur für die Praezipitations-Methode. — Der hauptsächliche Nachteil dieser Methode besteht darin, daß ihre Anwendung relativ große Mengen Immunserum erfordert; da ein Tier nur eine begrenzte Menge Serum liefert, die Zahl der damit anzustellenden Reaktionen bei unsern Versuchen aber eine sehr große war, so sind wir mit der Praezipitation nicht weit genug gekommen und haben hauptsächlich aus diesem Grunde wesentlich mit der folgenden Methode gearbeitet.

Die Konglutination ist insofern komplizierter als die Praezipitation, als zu ihrer Anwendung noch das Serum eines Wiederkäuers (wir verwenden Rinderserum) gebraucht wird. Dies ist aber von jedem

Schlachthof mit Leichtigkeit stets frisch erhältlich, und da die Manipulationen bei der Konglutination nicht verwickelter sind als bei der Praezipitation, so ist die Methode gleichfalls für botanische Zwecke wohl geeignet. — Die Vorteile der Konglutinations-Methode bestehen in ihrer idealen Empfindlichkeit, welche die der Praezipitation wesentlich überragt, und besonders in dem dabei auftretenden geringen Immunserum-Verbrauch. Man kommt mit der Konglutination viel weiter und kann von einem immunisierten Tier aus Hunderte von Einzelversuchen machen. Nachteilig ist bei der Methode die rasche Vergänglichkeit der im Rinderserum enthaltenen Konglutine. Deshalb erfordert die Konglutinations-Methode ein durchaus ununterbrochenes Arbeiten.

Man wird aber kein irgendwie wichtigeres Ergebnis für glaubwürdig halten, das nicht auf dem Weg beider Methoden, der Praezipitation und der Konglutination, gesichert wurde.

Denn wer mit Hilfe der Serum-Reaktionen Untersuchungen über Verwandtschaften anzustellen hat, muß sich dessen stets bewußt sein, daß die Fehlerquellen überaus häufig und nur mit größter Vorsicht zu vermeiden sind. Schon die absolute Empirie der gesamten Methoden, die Tatsache, daß wir von den Vorgängen beim Eintritt der Reaktionen auch nicht die geringste Vorstellung haben, muß zur Vorsicht mahnen. Doch gewinnt, wer mit den Methoden gearbeitet hat, bald völliges Vertrauen zu zweifellos ausfallenden Niederschlägen; dieses Vertrauen wird nicht nur gestützt durch die täglich hundertfältige Verifikation, die die sero-diagnostischen Methoden in der ärztlichen und besonders gerichtsärztlichen Praxis erfahren, sondern auch bei botanischen Untersuchungen durch Proben mit dem Arbeitenden unbekannten Samen, die stets zweifelsfrei das richtige Ergebnis liefern. Diese Art der Kontrolle ist für die Leitung einer größeren Zahl von Praktikanten, bei deren Versuchen man nicht immer dabei sein kann, von absoluter Notwendigkeit; nur dadurch, daß man regelmäßig bei jeder Reaktionsserie eine Anzahl verdeckter Samenpulver mit bearbeiten läßt, wird zugleich die Aufmerksamkeit der Arbeitenden wach gehalten und die Kritik geschärft. Auto-Suggestionen mit bedenklichen Folgen müssen bei den Serum-Untersuchungen besonders sorgfältig vermieden werden.

Daß die Serum-Diagnostik in der Botanik bisher für systematische Zwecke noch so gut wie garnicht verwendet wurde, hat die großen Schwierigkeiten ihrer dem Botaniker an sich fernliegenden Methoden zur Ursache.

Zunächst ist das Tiermaterial — Kaninchen werden bei uns benützt — bezüglich seiner Immunisationsfähigkeit sehr verschieden und unzuverläßig. Während das eine Exemplar bereits nach wenigen Antigen-Injektionen brauchbares Serum liefert, bleibt das Blut des

anderen ohne erkennbaren Grund unbrauchbar. Der medizinischen Forschung sind diese von vornherein unerkennbaren individuellen Verschiedenheiten der Tiere gleichfalls wohlbekannt. Als erschwerend kommen bei den zur Verstärkung der Immunisation stets nötigen mehrfachen Injektionen die anaphylaktischen Erscheinungen in Frage, die einen relativ großen Prozentsatz von Tierverlusten herbeiführen.

Die größte Schwierigkeit aber, die sich — worauf bereits Magnus und Friedenthal hingewiesen haben — botanischen Serum-Untersuchungen entgegenstellen und dieselben sehr viel schwieriger gestalten als die medizinisch-zoologischen, besteht in der innerhalb der weitesten Grenzen schwankenden und nur auf besondere Weise mühsam bestimmbaren Eiweiß-Konzentration der Auszüge aus unseren Objekten (Samen). Während der Zoologe und Mediziner es stets mit Blut oder Eiweißsubstanz oder einer ähnlichen Masse zu tun hat, die, weil rein aus Eiweißkörpern bestehend, maximale und zugleich damit direkt vergleichbare Konzentration besitzt, hat der Botaniker mit Auszügen aus Pflanzenteilen zu arbeiten, die an sich relativ eiweißarm sind und deren Eiweißgehalt zugleich kaum jemals direkt vergleichbar ist. In dieser Beziehung haben es sich, was übrigens für die ersten Schritte auf einem noch unerprobten Boden selbstverständlich ist, unsere Vorgänger leicht gemacht, indem sie nur Samen (z. B. von Leguminosen und Gramineen) zur Verwendung brachten, die außerordentlich viel Eiweiß an die als Lösungsmittel verwendete physiologische Kochsalzlösung abgeben. In Gegensatz dazu ist die Eiweißmenge im Extrakt der Samen sehr vieler anderer Familien (z. B. der Lauraceen, Myristicaceen, Salicaceen, Casuarinaceen) so klein, daß bisher mit diesen Familien weder eine Immunisation noch auch nur eine Reaktion gelingen wollte. Dies ist ein Anzeichen dafür, daß es nicht auf die absolute Menge von Eiweißstoffen in den Samen (die Eiweiß-Kristalloide der Myristicaceae sind wohl bekannt) sondern nur auf die Menge des in physiologischer Kochsalzlösung löslichen Eiweißes ankommt.

Die Kochsalzlösung durch eine Lösung von neutralem Natriumphosphat zu ersetzen, die bekanntlich auf Eiweißstoffe viel stärker lösend einzuwirken vermag, haben wir versucht, können aber diese Modifikation nicht empfehlen. Zwar wird durch das Natriumphosphat mehr Eiweiß gelöst, aber es treten in diesen klar filtrierten Lösungen dann bei Zusatz von Serum (auch nicht immunisiertem bei Kontrollversuchen) öfters störende Niederschläge auf, die wohl auf Ammonverbindungen der Phosphorsäure zurückzuführen sind. — Auf welche Weise es in einzelnen an sich schwierigen Fällen bereits gelungen ist, größere und reaktionsfähige Eiweißmengen in Lösung zu bekommen, wird mein Mitarbeiter Gohlke, der sich zunächst mit der Methodologie der

botanisch-systematischen Serum-Diagnostik befaßt hat, eingehend darlegen. Hier sei nur angedeutet, daß die Konzentration allzu schwacher Eiweißlösungen im Vakuum sich ermöglicht. Das überschüssige Salz muß dann durch Dialyse entfernt werden.

Die auf Eiweiß-Differenziation und damit auf systematische Unterscheidungen resp. Zusammenfassungen gerichteten Serum-Reaktionen sind sowohl qualitativer wie quantitativer Art. Qualitativ insofern, als eine typisch auftretende Ausflockung, sei es von Praezipitinen sei es von Konglutinen, unter den gleich zu berührenden Vorsichtsmaßregeln auf Eiweiß- (Antigen-) Gleichheit schließen läßt; quantitativ (wie insbesondere auch schon von Magnus und Friedenthal betont wird) insofern, als die Stärke der Reaktion auf nähere oder fernere Verwandtschaft einen Schluß zuläßt.

Was infolge der stets konzentrierten Eiweißarten der zoologischen und medizinischen Forschung dort nicht auf der Hand liegt, tritt bei der botanischen Anwendung der Methoden klar hervor: erstens kann die qualitative Reaktion selbst bei nahe verwandten Formen bei zu geringer Eiweißmenge in den pflanzlichen Auszügen völlig ausbleiben; zweitens kann die quantitative Reaktion trotz naher Verwandtschaft selbst bei sich nahe stehenden Formen infolge geringer Intensität der Ausflockung dann fernere oder selbst ferne Verwandtschaft vortäuschen, wenn der verwendete Auszug eiweißarm ist. Es muß mit besonderem Nachdruck hervorgehoben werden: nur dann können die Serum-Reaktionen Aufschluß über größere oder geringere Eiweiß-Gleichheit (nähere oder entferntere Verwandtschaft) geben, wenn sie alle auf gleichen Eiweiß-Titer gestellt sind. Oben wurde dies bereits gestreift; ein Beispiel möge hier die Frage nochmals illustrieren. Corylus liefert ein überaus eiweißreiches, Quercus ein sehr eiweißarmes Extrakt. An dem Umstand, daß bei Quercus die Reservestoffe wesentlich aus Stärke bestehen, liegt die Differenz nicht allein, denn die stärkereichen Samen der Gramineen geben sehr viel Eiweiß an das Lösungsmittel ab. Es würde, wenn man einfach die Auszüge von Corylus und Quercus, ohne sie auf gleichen Titer zu stellen, prüfen wollte, trotz nachgewiesener naher Verwandtschaft ein völlig schiefes Bild bei den Serum-Untersuchungen herauskommen.

Mit diesen Beobachtungen kompliziert sich jede systematisch-botanische Serum-Untersuchung leider sehr. Denn vor jeder Experimentreihe müssen alle zu prüfenden Auszüge nach Esbach auf ihren Eiweißgehalt untersucht und die Eiweißmengen der Lösungen müssen ungefähr wenigstens, sei es durch Verdünnung sei es durch Konzentration, auf den gleichen Titer gebracht werden.

Auf andere nur allzu oft das Ergebnis verschleiernde oder direkt fälschende Umstände, die auch der medizinischen Serum-Forschung

wohlbekannt sind, ohne daß es bisher dort wie bei uns gelungen wäre, sie mit Sicherheit zu vermeiden, wird Herr Gohlke hinweisen; ich habe hier nur die Absicht, mich mit allgemein wichtigen Fragen zu beschäftigen. Zu diesen gehört insbesondere auch als Erschwerung des Arbeitens und Fehlerquelle die Subjektivität der Ablesung der Niederschlagsstärke.

Wenn alle äußern Umstände gleichgestellt sind, so zeigt, wie dies bereits bekannt ist, die Stärke des Niederschlages auf größere oder geringere Verwandtschaft der untersuchten Formen hin. Irgendeine objektive Messung der Niederschlagsmenge ist aber bisher noch nicht gelungen. Nuttall hat für seine zoologischen Verwandtschafts-Untersuchungen einen Apparat angegeben, in dem das Sediment in einer Kapillare zusammensinkt und dadurch Säulchen bildet, deren Ausdehnung mit dem Horizontal-Mikroskop gemessen und verglichen werden kann. Ohne mir ein Urteil über die Verwendbarkeit dieser Methode für zoologische Untersuchungen (bei denen im allgemeinen, wie oben bemerkt, maximale Eiweiß-Konzentrationen vorliegen) bilden zu können, muß ich betonen, daß sie für botanische Zwecke nicht zu brauchbaren Vergleichen führt. Es hängt dies damit zusammen, daß, wie man ohne weiteres bei Betrachtung entstehender Ausflockungen mit der Lupe konstatieren kann, das Volum der entstehenden Niederschlags-Partikel in weiten Grenzen variiert. Damit verändert sich auch das Volum des Gesamtsediments und verliert bei verschiedener Korngröße der Partikel jede Vergleichbarkeit. — Versuche, durch Zentrifugieren den Niederschlag in Kapillaren zu verdichten, also den Fehler der wechselnden Korngröße auszuschalten, hatten Erfolg; durch das Ausschleudern wird aber (da es sich stets um absolut nur sehr geringe Massen der Niederschläge handelt) die Differenz so sehr verkleinert, daß die Unterschiede so gut wie völlig verschwinden. Auch lassen sich die Kapillaren nach Gebrauch allzu schlecht reinigen; die Anwendung dieser Meßmethode würde nur geringe Vorteile haben, denen bedeutender Aufwand gegenübersteht. Es wird zu zeigen sein, daß auch ohne sie objektive, ja sogar bessere Ergebnisse der Verwandtschafts-Beurteilung sich gewinnen lassen.

Wurden im Vorhergehenden die in der Untersuchungsmethode liegenden Schwierigkeiten summarisch erwähnt, so sei als Ergänzung noch hingewiesen auf die speziell dem Botaniker nicht allgemein geläufige Arbeitsart der serologischen Forschung, die offenbar ein Hemmnis dafür darstellte, daß solche Untersuchungen nicht schon längst in ausgedehnterem Maße begonnen wurden. Das Tierexperiment mit seinen intravenösen, subkutanen und intraperitonealen Injektionen, mit schulgemäß geregelter Blutabnahme etc. muß beherrscht werden; die peinlichste Sterilmachung und Sterilhaltung aller Instrumente und

Gefäße ist noch unumgänglichere Notwendigkeit, als bei der mykologischen Forschung; die exakten Dosierungen kleiner Flüssigkeitsmengen erfordern Übung, die nur bei chemischen Arbeiten gewonnen wird.

Sind aber diese Hemmnisse alle überwunden, so liefert die Serum-Untersuchung höchst befriedigende und objektiv giltige Ergebnisse. Man darf sich nur nicht vorstellen, daß auch stark positive Reaktionen sehr sinnfällig wären: auch im besten Fall handelt es sich bei den Ausflockungen der Praezipitine oder Konglutine um scheinbar schwache Veränderungen in der Flüssigkeit, deren Beurteilung gelernt und in langer Praxis geübt sein will. Nichts beweisende Trübungen und typische Ausflockungen auseinander zu halten erfordert öfters große Unabhängigkeit des Urteils; Autosuggestionen, die ein Resultat für gewonnen ansehen, das erwünscht ist, müssen streng vermieden werden.

Dies wird bei unsern Arbeiten in der Weise erzielt, daß keine Reaktion von nur einem Beobachter, daß die allermeisten von 4—5 in gleicher Richtung arbeitenden Beurteilern unabhängig, oft ohne Kommunikation in verschiedenen Zimmern abgelesen und registriert werden. Ich bin mir der außerordentlichen Gefahr der Suggestion und der großen Fehlerquellen der Methode wohl bewußt und habe sowohl durch eigene Beobachtung wie durch die unabhängigen Ablesungen mehrerer, wie endlich durch die oben angemerkte Verwendung verdeckter Proben mir erst Sicherheit darüber verschafft, daß die Ergebnisse objektiven Wert besitzen.

Daß zu den Untersuchungen hauptsächlich Samen resp. Sporen benützt werden, ist angesichts dessen, daß diese Pflanzenteile die Eiweißstoffe besonders konzentriert enthalten, selbstverständlich. Doch ist durch unsere Untersuchungen das Ergebnis von Magnus und Friedenthal bestätigt worden, daß andere Pflanzenteile die gleichen Reaktionen geben, daß also spezifische Eiweiß-Gleichheit besteht. Auxiliär können deshalb ebensogut z. B. auch Knospen zur Extraktion verwendet werden.

Von besonderer Wichtigkeit war die Feststellung, daß auch alte, seit mehreren Jahrzehnten in der Sammlung trocken lagernde Objekte in der Wirksamkeit ihres Eiweiß sogut wie nichts eingebüßt haben. Bezüglich der Samen kann ich mich deshalb Magnus und Friedenthal, die ihre von Dunbar abweichenden Ergebnisse dadurch zu erklären versuchen, daß frische und trockene Pollenkörner sich verschieden verhalten sollen, nicht anschließen. — Die Verwendbarkeit von trocken gelagertem Museumsmaterial ist deswegen von besonderer Wichtigkeit, weil dadurch allein die anzustrebende Lückenlosigkeit wenigstens bezüglich der allgemeinen Anordnung des Gewächsreichs

erzielt werden kann. Viele tropische, seltene Familien müßten andernfalls noch Jahrzehnte ununtersucht bleiben.

Auch in Alkohol konserviertes Samenmaterial ist für die Seruntersuchungen nach Gohlkes Feststellungen verwendbar, wenn es auch nicht mehr ganz so stark zu wirken scheint, wie trocken aufgehobenes; dagegen vernichten die beliebten Konservierungsmittel Formalin und Sublimat leider die Brauchbarkeit, und das gleiche gilt von der seltener angewendeten schwefligen Säure. — Die zur Extraktion von störenden (Fett) oder giftigen Substanzen (z. B. Alkaloiden) angewendeten Lösungsmittel Alkohol, Äther und Benzol wirken auf die spezifischen Eiweißstoffe nicht ein.

Die erste Aufgabe unserer Arbeit war, zunächst die Brauchbarkeit und Zuverlässigkeit der Methoden festzustellen. Die anderwärts gemachten Erfahrungen konnten, da lückenhaft, nicht zum Zweck systematischer Familienverknüpfung angestellt und teilweise mit widerspruchsvollen Resultaten publiziert, uns nicht genügen, um irgendwie darauf zu bauen. Nur eines haben wir als zutreffende Erfahrung unserer Vorgänger mit jeder neu in Angriff genommenen Pflanzenfamilie immer von neuem wieder bestätigen können: daß sich pflanzliches Eiweiß im allgemeinen sero-diagnostisch schwerer differenzieren läßt als tierisches. Diese Erfahrung ist aber der wesentliche Grund für die nicht unbeträchtlichen Erfolge, die wir bezüglich der Feststellung weiter Verwandtschaftskreise erzielen konnten. Denn dies „schwer differenzierbar“ heißt nichts anderes, als daß in sehr weitem Umfang große Eiweiß-, also Antigengleichheit besteht; mit andern Worten, daß die Reaktionen ungeheuer weit reichen (z. B. von den Magnoliaceen bis in die Pinaceen hinein nach unten, bis zu den Ranunculaceen auf dem einen, bis zu den Resedaceen auf dem andern Ast der aufsteigenden, sich in der Nähe der Berberidaceen verzweigenden Hauptlinie des Dikotylenstammes). Wer zu praktischen Zwecken eine bestimmte Spezies, die vielleicht als Mehl vorliegt, mit Hilfe unserer Methode wiedererkennen will, wird diese weite Erstreckung der Reaktionen bedauern; wem es dagegen auf Zusammenfassung, auf Erforschung von Familien-Zusammengehörigkeit ankommt, hat in dieser „schweren Differenzierbarkeit“ der pflanzlichen Eiweißsorten das am meisten fördernde Moment zu sehen. — Auf diese Erscheinung der weiten Erstreckung der Reaktionen über viele Familien hinweg gründe ich den oben vorgetragenen Schluß, daß unsere Angiospermen-Familien unter sich näher verwandt sind, als im allgemeinen angenommen wird. Ihre relativ sehr junge Differenziation bedingt, daß Eiweis-Gleichheit in weitaus größerer Erstreckung des systematischen Stammbaums vorhanden ist, als dies in der Tierreihe der Fall zu sein scheint.

Die ersten methodologischen Versuche und die darauf folgende Inangriffnahme der ersten Familienreihen bezogen sich ausschließlich auf Formenkreise, über deren Homogenität kein Zweifel bestehen kann. Sollte die Methode als brauchbar sich erweisen, so mußte zunächst nachgewiesen werden, daß sie in keinem einzigen Fall wirklich unzweifelhafter Verwandtschaft versagte. Dazu mußten große Familien gewählt werden, denn nur solche konnten die große Zahl von Spezies liefern, mit denen zunächst das von einer Spezies derselben ausgehend gewonnene Immunserum erprobt werden mußte. Die Familien der Leguminosen (Zentralspezies, als Antigen verwendet: *Ervum lens*), der Cruciferen (Immunisationsspezies: *Brassica Napus oleifera*) und der Compositae (Ausgang von *Helianthus annuus*) boten solche zweifellos homogene, reiche Formenkreise. Der Samenaustauch der botanischen Gärten lieferte das gebrauchte Reaktionsmaterial. Mein Mitarbeiter Gohlke wird die Tabellen veröffentlichen, in denen durch hunderte von Reaktionen gezeigt wird, daß nicht eine einzige untersuchte Leguminose nicht mit *Ervum lens,* daß keine Crucifere nicht mit *Brassica*, daß keine Composite nicht mit *Helianthus* reagierte.

Damit war die Brauchbarkeit der Methode noch nicht erwiesen; sie konnte erst dann als anwendbar gelten, als nachgewiesen war, daß alle untersuchten Rosaceae und Ranunculaceae gleichfalls mit *Ervum lens* positive Reaktion gaben, aber nicht ein einziges Glied einer andern ferner stehenden Familie; daß gleicherweise die Cruciferen mit den Capparidaceae, Resedaceae, Violaceae reagierten, nicht aber z. B. mit den Leguminosae, Rosaceae, Ranunculaceae. Mit diesen Nachweisen erschien der Weg gangbar und zugleich gutes versprechend.

Auf die wesentlichsten bisher gewonnenen Ergebnisse über Antigen-Gleichheit und damit Eiweiß-Verwandtschaft soll nachher eingegangen werden. Zunächst sind noch einige theoretisch wichtige Fragen zu behandeln.

Die Serum-Reaktionen möchte ich mit drahtloser Telegraphie vergleichen: von einem Zentralpunkt aus (dem mit einer beliebigen Spezies gewonnenen Immunserum) sprechen, wenn (siehe oben) alles in Ordnung ist und es gelang, alle Fehlerquellen auszuschalten, sämtliche geprüfte Spezies an, soweit sie innerhalb der Reichweite liegen. Wird nun von einer Spezies aus eine andere fernliegende durch die Reaktion erreicht, so muß gefordert werden, daß beim Ausgang von dieser letzteren aus auch die erstere wieder erreichbar ist; es muß gefordert werden, daß, wie dies tatsächlich der Fall ist, beim Ausgang vom Magnolia-Serum Nigella unter den Ranunculaceen, Pinus und Picea unter den Pinaceen ereicht werden, beim Ausgang von Nigella oder von Pinus resp. Picea auch Magnolia positive Reaktion

liefert. Dies ist tatsächlich der Fall und die Reziprozität der Reaktion (siehe oben) konnte überall tadellos gefunden werden, wo mit hoch immunisierten Seris gearbeitet wurde. Ist aber das eine Serum hochwertig, das andere geringwertig, so wird, wie in der drahtlosen Telegraphie die mächtigere Station weiter reicht, das hochwertige Serum noch Antigen-Gleichheiten nachweisen lassen, wo das geringwertige bei reziproker Anwendung nicht mehr zurückreicht. — Jede Abweichung von diesem Fundamentalsatz, daß die Reaktionen reziprok sein müssen, deutet auf Fehler oder Unvollkommenheiten und läßt alle mit dem betr. Serum erzielten Ergebnisse als suspekt erscheinen.

Es kann nicht entgehen, daß mit dieser Forderung der reziproken Reaktionen schon eine ganz wesentliche Kontrolle der Untersuchung und Bestätigung ihrer Ergebnisse gegeben wird. Aber damit ist die relativ sehr große Sicherheit, die den sero-diagnostischen Ergebnissen innewohnt, noch nicht erschöpft. Nicht nur die entferntesten Formenkreise, sondern selbstverständlicher Weise noch viel intensiver die näher stehenden geben Reaktionen und jede reziproke Gegenreaktion bestätigt alle vorher gewonnenen positiven Ergebnisse. Um ein Beispiel anzuführen: Zwischen Ranunculaceae und Magnoliaceae liegen, resp. wurden von beiden aus bisher reaktionsmäßig erreicht, die Familien der Berberidaceae, Lardizabalaceae, Resedaceae, Menispermaceae, Calycanthaceae, Anonaceae, Nymphaeaceae. Demnach muß jede dieser Familien wieder mit Ranunculaceae und Magnoliaceae als Endgliedern und mit jeder genannten Familie als Zwischengliedern der Reihe reagieren. Offenbar erhält bei Eintreten dieser Reaktionen jede einzelne Reaktion eine wesentliche Bestätigung.

Aber noch weitere Schlüsse können aus den Amplitüden der jeweils von einer Familie aus erreichbaren Reaktionen gezogen werden. Geben, wie dies tatsächlich der Fall ist, die Magnoliaceae mit den Ranunculaceae (Lange) reziproke Reaktionen; geben die Magnoliaceae gleichfalls mit Angehörigen der Pinaceae (Lange, Kirstein) reziproke Reaktionen; reagieren dagegen, wie dies gleichfalls nachgewiesen ist, die Pinaceae nicht mit den Ranunculaceae, so steht die Folgerung fest, daß die Magnoliaceae phylogenetisch zwischen den Pinaceae und den Ranunculaceae stehen.

Je tiefere Stellung ein Formenkreis im natürlichen System einnimmt, um so weiter reichen seine Reaktionen nach unten, umso weniger weit nach oben. Kennen wir sämtliche Reaktionen aller Familien, so ist uns damit unmittelbar das System ihrer Eiweiß-Verwandtschaft gegeben: die Magnoliaceae reichen mit ihren Reaktionen bis zu den Ranunculaceae; die Berberidaceae über die Ranunculaceae hinweg bis zu den Rosaceae; die Ranunculaceae über die Rosaceae hinweg bis zu den Leguminosae; wenn sich die etwas suspekten Rosaceae-

Reaktionen bestätigen, die Rosaceae bis zu den Myrtales in die Höhe.

Aus diesen Darlegungen und Beobachtungen wird verständlich, weswegen oben der scheinbar so wichtigen Frage der Beurteilung, ob beim Eintreten der Serum-Reaktionen eine scharfe Scheidung von nahe oder fernere Verwandtschaft anzeigender starker oder schwacher Ausflockung stattzufinden habe, eine übergroße Bedeutung abgesprochen wurde. Jede Reaktion ist, wenn sie nicht durch Mengen gleichlautender Gegen- und Parallel-Reaktionen bestätigt wird, für unsre systematischen Zwecke als suspekt auszuscheiden. Liegen aber die vielen Parallel-Reaktionen (wie oben an dem Beispiel der Verknüpfung der Leguminosae und vielleicht der Myrtales mit den Magnoliaceae gezeigt wurde) vor, so ergibt sich aus dem Vergleich der Reaktionen ohne weiteres, daß das Eiweiß der Ranunculaceae dem der Rosaceae mehr gleicht, als dem der Magnoliaceae; mit andern Worten, daß die Ranunculaceae den ersteren näher stehen, als den letzteren. Doch ist klarer Weise der Intensitäts-Ausfall jeder Reaktion, wenn er nur genügend ablesbar ist, theoretisch notwendiger Weise und in vielen Fällen praktisch tatsächlich eine Bestätigung der durch Vergleich mehrerer Parallel-Reaktionen sicherer zu gewinnenden Ergebnisse. Es ist aber stets, wie oben dargestellt, zu beachten, daß die Intensität der Ausflockung von vielen Fehlern verschleiert werden kann. Auf die wechselnde Konzentration der Eiweiß-Lösungen wurde bereits oben hingewiesen, und dieser Fehler ist wegen der Schwierigkeit, den Titer genau zu stellen, kaum vermeidbar. Die Resultate der Vergleichung der Ausflockungs-Intensität können stets nur approximative sein. Und dazu kann bisher niemand beweisen, daß die Titerstellung nach Ausfall der Esbach-Reaktion wirklich eine Titerstellung der Praecipitine oder Konglutine ist. Diese Reaktion ermöglicht nur eine innerhalb weiter Grenzen ungenaue Eiweißmessung als solche, von der sicher auch (in ihrer Menge unbekannte) inaktive Eiweißstoffe mit betroffen werden.

Liegen nun von zwei oder mehreren Familien die zweckmäßiger Weise immerhin provisorisch in nähere und fernere eingeteilten Ausflockungs-Reaktionen vor, so sind diese zunächst leicht in der Weise in diagrammatische Form zu bringen, daß man auf einer dem Zentrum näher gelegenen Kreislinie die nahen (starken), auf einer entfernter gelegenen die ferneren (schwächeren) Reaktionen einträgt. Eine oder mehrere je zwei Familien gemeinsame Reaktionen bestimmen dann die Lage der Einzeldiagramme zueinander und bilden die notwendige Verknüpfung. Unsere Figur 1 zeigt eine der für die Familien der Leguminosae, Rosaceae, Cruciferae, Papaveraceae, Cucurbitaceae und Compositae möglichen Lagen solcher Diagramme in gegenseitigem An-

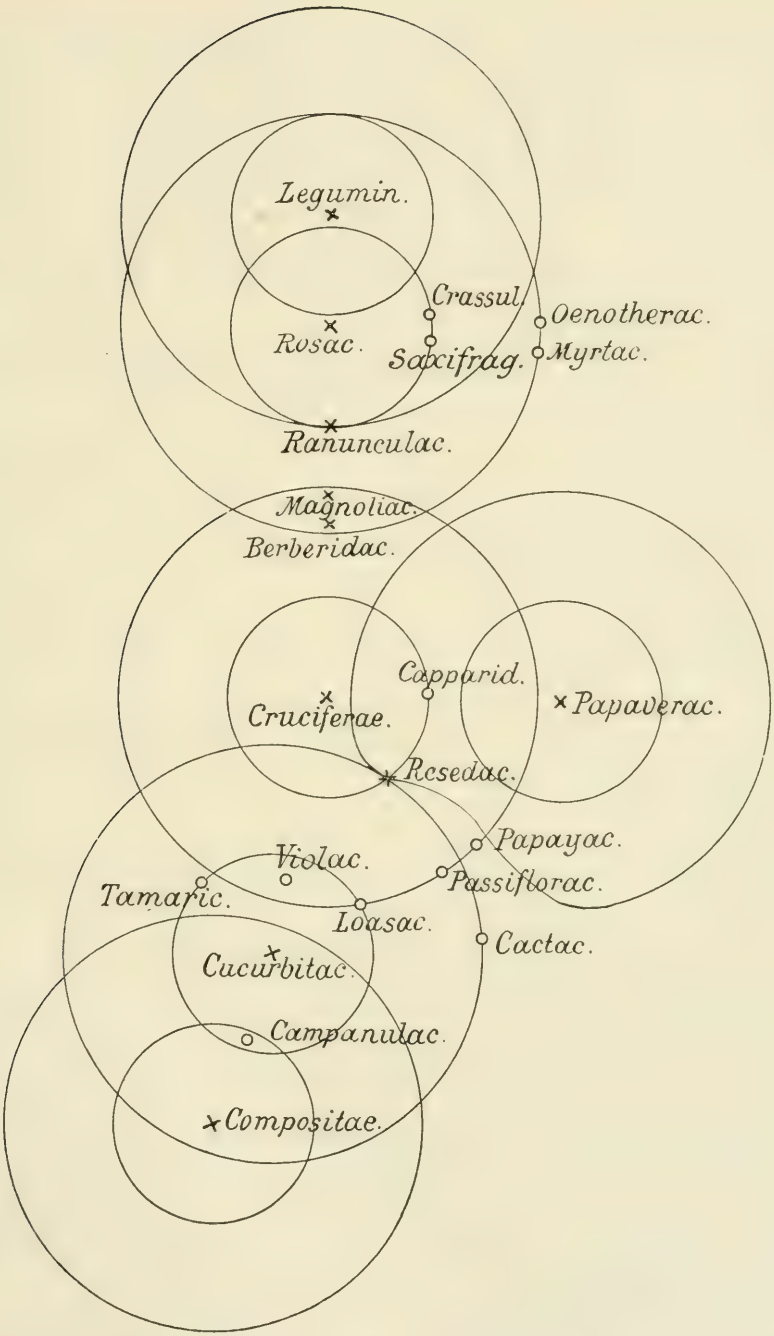

Legumin.
Crassul.
Oenotherac.
Rosac.
Saxifrag.
Myrtac.
Ranunculac.
Magnoliac.
Berberidac.
Capparid.
Papaverac.
Cruciferae.
Resedac.
Papayac.
Violac.
Passiflorac.
Tamaric.
Loasac.
Cactac.
Cucurbitac.
Campanulac.
Compositae.

Fig. 1.

schluß (Gohlke). Dabei fällt für die Familie der Papaveraceae auf, daß die gezeichnete äußere Kreislinie nicht völlig gerundet ist. Dies hängt damit zusammen, daß die in Wirklichkeit körperhaft vorzustellende, nach allen Seiten gehende Ausgestaltung der systematischen Verwandtschaft im Diagramm natürlich auf die Ebene gezwängt werden muß. Je mehr Familien in der angegebenen Weise zusammen geordnet werden, umso größer müssen die Unregelmäßigkeiten der Flächendiagramme werden. Eine körperhafte Darstellung mit sich schneidenden Kugeloberflächen würde dagegen ohne weiteres einen verzweigten Stammbaum liefern.

Trotz der unvollkommenen Darstellung im Flächendiagramm lassen sich aber doch aus unserer Figur 1 eine ganze Anzahl wichtiger Folgerungen ohne weiteres ablesen:

a) Magnoliaceae und Berberidaceae gehören dem gemeinsamen Stamm der Rosaceae und Cruciferae an. Daraus folgt, daß eine Gabelung des Stammbaums, der als relative Endglieder die Cruciferae und Rosaceae trägt, unterhalb der Ranunculaceae stattgefunden haben muß, und ferner, daß die Berberidaceae phylogenetisch tiefer stehen, als die Ranunculaceae. — Die genauere Lage dieser Gabelung ist aus unserer Figur 1 noch nicht zu ersehen; sie ist dagegen aus weiteren Untersuchungen (Lange), die nicht in das Diagramm eingetragen wurden, weil sie dasselbe zu sehr kompliziert hätten, Untersuchungen, die die Berberidaceae selbst sowie die Ranunculaceae als Zentrum hatten, derart festgelegt, daß sie direkt bei den Berberidaceae selbst liegen muß.

b) Leguminosae und Rosaceae sind tatsächlich allernächst verwandt; erstere stellen eine Auszweigung vom Stamm der letzteren dar. Denn der Rosaceaestamm setzt sich zu Crassulaceae und Saxifragaceae, die noch innerhalb der sicher gestellten Fernreaktion von den Leguminosen aus liegen, fort, und geht, wenn sich die etwas suspekten mit den Rosaceae als Zentrum angestellten Untersuchungen (Gohlke) bestätigen werden, noch weiter zu den Oenotheraceae und Myrtaceae, die ihrerseits mit den Leguminosae nicht mehr reagiert haben.

c) Sowohl Resedaceae wie Capparidaceae liegen zwischen Berberidaceae und Cruciferae; da die Resedaceae und Capparidaceae auch mit den Papaveraceae reagieren, dürfte das Zweigstück des Systems zwischen Magnoliaceae und Capparidaceae über die Resedaceae hinweg den Cruciferae und Papaveraceae gemeinsam sein.

d) Dagegen reagierten gegen alles Erwarten die Papaveraceae reziprok nicht mit den Cruciferae; daraus folgt, daß die Cruciferae den Capparidaceae wesentlich näher stehen, als die Papaveraceae (Papaveroideae; Ausgangsspezies: Papaver somniferum). Letztere

stellen eine weit vorragende Endentwickelung der Rhoeadalesreihe, deren Basis die Capparidaceae zu bilden scheinen, dar.

e) Die Resedaceae stehen nicht nur den Berberidaceae (nach unten) und den Capparidaceae (Seitenast der Rhoeadales) nahe, sondern auch den Violaceae. Damit ist nicht nur zunächst die Abzweigung der Parietales bei den Berberidaceae von der Ranalesreihe, sondern folgend auch die Abzweigung der Rhoeadales von den Parietales in der Nähe der Resedaceae wahrscheinlich gemacht. Letztere, die stets eine schwankende Stellung zwischen den Parietales (Eichler) und den Rhoeadales (Engler) eingenommen haben, dürften demnach tatsächlich dem Stammbaum sowohl der Rhoeadales wie der höheren Parietales angehören; sie scheinen auf der Hauptlinie des Parietaleszweiges zu liegen und werden deshalb von mir den Cistiflorae zugerechnet, die ich als Unterreihe der erweiterten Parietales (andere Unterreihen: Rhoeadales, Passiflorales, Cucurbitales) auffasse.

f) Die Violaceae stehen nicht nur zu den Resedaceae, sondern auch zu den Cucurbitaceae in unverkennbarem Verhältnis der Eiweißverwandtschaft. Letztere zeigten auch z. B. mit den Passifloraceae, Loasaceae, Cactaceae unverkennbare (doch noch nicht reziprok bestätigte) Reaktion. Bis die Forschung weiter vorgeschritten ist, kann über die nähere Anordnung dieser Passiflorales, die zwischen den Resedaceae und den Cucurbitaceae vom Parietalesstamm abzweigen, noch nichts genaueres gesagt werden.

g) Dagegen steht fest, daß die Cucurbitaceae mit den Campanulaceae und gleichfalls die Compositae (Heliantheae!) mit den Campanulaceae nahe reagieren. Demnach bilden tatsächlich die Campanulaceae die Verbindung zwischen den Cucurbitaceae und den (monophyletischen!) Compositae.

Auf diesem hier nur kurz skizzierten Wege, dessen Details von meinem Mitarbeiter Gohlke bald veröffentlicht werden, ist es also gelungen, durch Serum-Reaktionen eine Verknüpfung zwischen dem Anfang der Dicotylen (Magnoliaceae) und dem Ende derselben (Compositae) zu finden. Dies positive Ergebnis wird durch viele negative noch bereichert; ich erwähne darunter besonders die Feststellung, daß die Dipsaceae weder mit den Compositae noch mit den Campanulaceae eiweißverwandt sind. Es tritt die klarste Konvergenz bei der so ähnlichen Ausbildung der Compositae und Dipsaceae nun bewiesenermaßen entgegen.

Haben die bisher ausführlich dargestellten mit Gohlke gemachten Serum-Reaktionen den Weg der Eiweißverwandtschaft von den Magnoliaceae zu den Compositae geklärt, so haben die mit Kirstein gemachten Untersuchungen positive Reaktionen von den Pinaceae zu den Selaginellaceae und zu den Magnoliaceae ergeben und bei der

Untersuchung der Ranales mit Lange wurde von uns auch der Anschluß der Amentales und Urticales an diese Hauptreihe der Dicotylen festgestellt. Die Chenopodiaceae reagieren über die Nyctaginaceae, Aizoaceae, Phytolaccaceae mit den Berberidaceae einerseits, über die Polygonaceae mit den Juglandaceae anderseits. Der Reaktionskreis der Juglandaceae (Gohlke) aber reicht bis zu den Fagaceae, den Moraceae und Ulmaceae und anderseits über die Myricaceae zu den Piperaceae (letztere Reaktion bisher noch nicht reziprok festgestellt).

Wir würden dementsprechend die Centrospermae in der Nähe der Berberidaceae (bei den Lardizabalaceae?) vom Ranalesstamm abzweigen sehen; dieser Centrospermenast scheint unter Gabelung von den Caryophyllaceae und Portulacaceae als Endgliedern gekrönt zu werden; die Polygonaceae scheinen auf einer Abzweigung des Centrospermenstammes in der Nähe der Chenopodiaceae-Amarantaceae zu stehen; bei den Juglandaceae (die als Knotenpunkt der Amentales-Piperales-Urticales zu betrachten sind) scheinen diese letztgenannten Reihen abzuzweigen. — Leider hat Casuarina infolge großer Eiweißarmut der Samen kein reaktionsfähiges Extrakt gegeben; sonst würde vielleicht gleich bei unserer ersten Publikation über die erhaltenen Ergebnisse die von manchen angenommene primäre Stellung der Casuarinaceen im Dicotylensystem noch unzweideutiger geklärt sein, als dies jetzt schon durch den Nachweis der Eiweißverwandtschaft zwischen den Pinaceen und Magnoliaceen der Fall ist. Denn alle unsere Untersuchungen bestätigen bisher, daß die Dicotylen eine mit den Magnoliaceen beginnende Reduktionsreihe sind; von den Betulaceae aus, die mit den Juglandaceae und Fagaceae tatsächlich eiweißverwandt sind, erscheint der Weg zu den Casuarinaceae wahrscheinlicher als eine diphyletische Entstehung der Dicotylen wäre.

Mit diesen bisher dargestellten Ergebnissen ist aber der Kreis der bisher gemachten Erfahrungen noch nicht völlig dargestellt.

Zunächst sei erwähnt, daß die Aristolochiaceae mit den niedersten Ranales, insbesondere den Nymphaeaceae und Magnoliaceae, positive Reaktionen geliefert haben (Lange). Damit ist zum erstenmal ein begründeter Hinweis für den Anschluß dieser so solitären Gruppe gewonnen worden.

Dann haben die Alismataceae mit den Magnoliaceae positiv reagiert (Lange, Meineke); damit erscheint der Anschluß der Helobiae an die niedersten Ranales nun definitiv gesichert.

Ferner haben die Pinaceae mit den Nymphaeaceae und Magnoliaceae sowie mit den Taxaceae und Gnetaceae, nicht aber auch mit den Araucariaceae, Ginkgoaceae und Cycadaceae deutliche Ausflockung gegeben (Kirstein).

Endlich ist der unzweifelhafte Anschluß (vor der Hand leider noch nicht reziprok, sondern erst von oben herab) der Pinaceae an die Selaginellaceae gewonnen (Kirstein).

Es fragt sich nun, inwieweit man diesen nicht unwichtigen Ergebnissen bezüglich der Beurteilung der phylogenetischen Verwandtschaft Vertrauen schenken darf. Mit Nachdruck betone auch ich den von Janchen eingenommenen Standpunkt und mache ihn ausdrücklich zu meinem eigenen, daß die Serum-Reaktionen an sich nichts über Verwandtschaften aussagen, sondern nur Eiweißgleichheiten, also physiologisch-chemische Übereinstimmungen resp. Abweichungen kennen zu lehren vermögen. Unter keinen Umständen haben wir in den Serum-Reaktionen das systematische Panacée in der Hand — wir würden uns sonst zu sehr von Goethes satirischem Wort betreffend die Wissenschaft getroffen fühlen müssen: „Und wer nicht denkt, dem wird sie geschenkt, er hat sie ohne Sorgen" — sondern wir sehen nur einen neuen Weg der Forschung geöffnet, dessen Ergebnisse mit denen der andern systematischen Methoden verglichen werden müssen und nicht als wertvoller, sondern nur als ebenso beachtenswert in die Wagschale fallen.

Nun ist es für die bisherigen Resultate der botanisch-systematischen Serumforschung nicht ungünstig, daß bisher kein einziges unter ihnen dem, was wir bisher als möglich, ja wahrscheinlich anzusehen pflegten, widerspricht. Im Gegenteil, es bleiben auch nach unsern Forschungen die großen Reihen der Monocotylen, der Ranales, Rosiflorae, Centrospermae, Amentales, Parietales, Campanulatae gut beisammen und nur über ihre gegenseitige Verknüpfung werden Aussagen gemacht. Auch andere Reihen — besonders die Umbelliferales und Contortae wurden bisher geprüft — bleiben völlig im bisherigen Bestand; nur ihr Anschluß an das Netz der bisher einigermaßen festgelegten Gruppen ist noch nicht gefunden. Ich teile deshalb über diese Formenkreise vorläufig noch nichts mit. Auch mache ich noch keine Angaben über die aus den bisher geprüften Reihen ausscheidenden Familien und über ihren Anschluß. Dies sei den Detail-Veröffentlichungen meiner Schüler vorbehalten.

Mit dem bisher Ausgeführten wird nun noch nicht gegeben, was diejenigen, die bisher meinem Faden folgten, von mir zu erwarten berechtigt sind: durch Aufrißzeichnungen läßt sich jede wirkliche phylogenetische Verwandtschaft darstellen und nur solche geben einen klaren Überblick über das Wissenswerte.

Wenn ich in Fig. 2 versuche, die Eiweißverwandtschaft in Stammbaumform zu geben, so ist folgendes vorauszuschicken:

Klarer Weise deutet die Reaktion, ob nah oder fern anzeigend, nur auf innerhalb gewisser Grenzen liegenden gemeinsamen Ursprung

Fig. 2.

Die als Ausgangspunkte der Reaktionen verwendeten Familien sind mit ×, die reagierenden aber noch nicht als Ausgangspunkte untersuchten mit ○ bezeichnet.

der verschiedenen Formen. Sie gibt eine Linie von geringerer oder größerer Länge, sagt dagegen nichts darüber, ob diese Linie als Gerade verläuft oder ob sie ein- bis mehrfach gebrochen ist. Ob demnach der Antigen-Formenkreis, der als Ausgangspunkt der Reaktion dient und das Immunserum geliefert hat, geradlinig oder durch gebrochene Linien mit den Formenkreisen zu verbinden ist, die Reaktion ergeben, geht aus der Reaktion an sich nicht hervor. Nur durch Kombination mehrerer von verschiedenen Ausgangspunkten aus erhaltener Reaktionen kann erschlossen werden, wo Abzweigungen von der Hauptlinie des Stammbaums vorhanden sind.

Was als Hauptlinie zu betrachten ist, wird dadurch charakterisiert, daß oberhalb der Abzweigung noch Formen vorhanden sind, die mit denen unterhalb der Abzweigung durch auffallend gleichartige morphologische Charaktere verknüpft sind. Ich betrachte als Hauptlinie des in Fig. 2 dargestellten Verknüpfungsbaumes die von den Magnoliaceae zu den Myrtales führende Linie deshalb, weil auf ihr oberhalb der bei den Berberidaceen stattfindenden Abzweigungen noch die wie die Berberidaceen zu den Ranales gehörigen Ranunculaceae liegen.

Weshalb bei den Berberidaceae mehrere reagierende Familien auf Abzweigungen liegen, dort also bisher zwei große Äste des Dicotylenreiches als Seitenlinien ansetzen, geht ohne weiteres aus der Reaktionsamplitüde der Chenopodiaceae einerseits (Centrospermenast), der Cruciferae anderseits (Parietalesast) hervor. Keiner dieser Äste reagiert, da die Anfangsglieder derselben noch nicht untersucht sind, bisher mit einer Form des andern. Sie werden nur durch gemeinsame Reaktion mit den Berberidaceae bisher untereinander verbunden. Doch ist mit Sicherheit zu erwarten, daß, wenn, was in kurzer Zeit der Fall sein wird, die Resedaceae und Phytolaccaceae als Centra verwendet werden, diese Familien gegenseitig und damit die Anfangsglieder der Äste der Centrospermen und der Parietales miteinander Ausflockung geben werden. Durch die bisherigen Reaktionen ist aber der gebrochene Lauf der Linien von den Magnoliaceae zu den Phytolaccaceae und von den Magnoliaceae zu den Cruciferae bereits festgestellt, mit andern Worten, es steht fest, daß diese Familien auf Seitenästen des Eiweißverwandtschafts-Stammbaums liegen.

Es wäre wünschenswert, aus der Stärke der Reaktion die Entfernung der einzelnen Familien untereinander mit etwas größerer Sicherheit ungefähr wenigstens bestimmen zu können; dann würde, gewissermaßen automatisch, die Länge der einzelnen geraden oder gebrochenen Verbindungslinien zwischen den Familien aufgezeichnet und dadurch ein Stammbaum der Eiweißverwandtschaft gegeben werden können, der mit dem hypothetischen natürlichen die größte

Übereinstimmung zeigen würde. Leider ist dies nicht mit Sicherheit möglich. Aus den oben auseinandergesetzten Schwierigkeiten der Methode, insbesondere aus der völlig unkontrollierbaren verschieden starken Immunisationsfähigkeit der Versuchstiere ergibt sich die Unsicherheit der diesbezüglichen Versuche; nur die Reaktionen von verschiedenen und möglichst vielen Ausgangspunkten aus können, wie oben dargestellt, in dieser Beziehung sicher zum Ziele führen.

Immerhin wurde in unserer Figur 2 die Reaktionsstärke, wenn auch nur provisorisch, in der Länge der Linien berücksichtigt. In dieser Beziehung wurden aber auch die anderwärts bekannten systematischen Einteilungsprinzipien mit in Rechnung gezogen: wir sind froh, von den Selaginellaceen zu den Pinaceen, von diesen zu den Magnoliaceen, von diesen zu den Alismataceen überhaupt unzweideutige Reaktionen erhalten zu haben. Wie lang oder wie kurz die Linien zwischen diesen Formenkreisen in unserer Aufrißzeichnung auszufallen haben, ist dem gegenüber vor der Hand irrelevant. Man kann also nach unsern Ergebnissen nicht sagen, daß die Verwandtschaft zwischen Rosaceae-Magnoliaceae und Pinaceae-Magnoliaceae gleichweit sei, oder daß ebenso lange Zeiträume erforderlich waren, um aus einer Pinacee eine Magnoliacee, wie aus dieser wieder eine Ranunculacee entstammen zu lassen; wenn auch das gleiche Immunserum von den Magnoliaceae aus sowohl die Pinaceae wie die Rosaceae erreichte, so zeigt doch die allgemeine Morphologie unzweideutig, daß die Distanzen dieser Familien gegenseitig sehr verschiedene sein müssen. Diesen Erwägungen wurde in der Figur Rechnung getragen.

Unsere Figur 2 soll kein Definitivum darstellen; sie ist ein Extrakt aus Tausenden von Reaktionen, aber doch immer nur von einem verschwindenden Bruchteil der notwendigen. Auf dem Centrospermenast z. B. liegen die Familien der Phytolaccaceae und Aizoaceae den Berberidaceae näher als alle andern Familien. Diese Aufzeichnung widerspricht nicht der von den Chenopodiaceae vor der Hand erst allein gefundenen Reaktion, sondern steht mit ihr in Übereinstimmung; anderseits entspricht sie unsern allgemeinen Vorstellungen über die Verwandtschaftsverhältnisse der Centrospermen und wurde deshalb provisorisch so gemacht. Die Anklänge an Apocarpie bei den Phytolaccaceae, die totale Fächerung des Gynoeceums der Aizoaceae lassen diese Familie schrittweise den Ranales näher verwandt erscheinen. Bis sie als Ausgangscentra für Reaktionen selbst benützt und geprüft sein werden, nehmen sie ihre Stellung nur provisorisch ein.

Die unternommenen Untersuchungen müssen klarerweise völlig voraussetzungslos weiter geführt werden; aber jede definitive Festlegung der Stellung einer Familie an dem nach morphologisch-syste-

matischen Gründen vorausgesagten Fleck stellt eine Bekräftigung der Untersuchungsresultate unserer Methode dar. Und hier sei auf das nicht zu unterschätzende Ergebnis ganz besonders hingewiesen, daß unsere Untersuchungen bisher noch in keinem einzigen Fall etwas ergeben haben, was mit vernünftigen morphologisch-systematischen Erwägungen in Widerspruch stünde. Im Gegenteil: Die wohlcharakterisierten Reihen bleiben alle beisammen; die Verknüpfung derselben ist mehrfach genau so, wie sie von den urteilsfähigsten Bearbeitern dargestellt wurde.

Eine Anzahl von allgemeinen interessanten Erörterungen sind noch an die hier dargestellten Resultate zu knüpfen:

1. Die Reaktion von den Pinaceae zu den Selaginellaceae ist positiv, zu Ginkgo und den Cycadaceae negativ. Die Eiweißverwandtschaft zeigt, daß der Stammbaum der höheren Pflanzen nicht von den Filices eusporangiatae zu den Cycadofilices—Cycadales—Bennettitales—Magnoliaceae geht, sondern daß die Linie Muscineae—Lycopodiales eligulatae—Lycopodiales ligulatae—Coniferales—Magnoliaceae eingehalten wurde.

2. Damit wird überwiegend wahrscheinlich, daß die Gymnospermen diphyletisch sind, daß zwar die Cycadales und Bennettitales von den Cycadofilices abstammen, nicht aber die Coniferales.

3. Dadurch, daß die Reaktion von den Pinaceae zu den Gnetaceae (Ephedra) positiv ist, wird zum Überfluß nochmals die Gymnospermie der Gnetales und ihre Verwandtschaft mit den Pinaceae festgestellt, ihre Zusammengehörigkeit mit den Santalales dagegen beseitigt. Der Anschluß der Gnetales an den Coniferenstamm ist eine wertvolle Bereicherung unserer Kenntnisse.

4. Da die Blüte der Lycopodiales ligulatae, die als Aszendenten der Pinaceae in Frage kommen, nämlich der Selaginellaceae resp. Sigillariaceae oder Lepidodendraceae eine wirkliche Blüte ist, kann auch der Zapfen der Pinaceae keine Infloreszenz, sondern muß eine Blüte sein. Es entfallen die Spekulationen über den Zweigcharakter der Fruchtschuppe der Pinaceae wie auch der Gegensatz, der zwischen den Pinaceae einerseits, den Araucariaceae anderseits insofern konstruiert wurde, als letztere echte Blüten, erstere dagegen Blütenstände haben sollen.

5. Demnach ist die Fruchtschuppe der Coniferenblüte der Ligula des Makrosporophylls der Lycopodiales ligulatae analog, die Tragschuppe dem Makrosporophyll selbst.

6. Es würden demnach die Pinaceae phylogenetisch tiefer stehen als die Araucariaceae — falls letztere, die noch keine Reaktion mit den Pinaceae gegeben haben, nicht überhaupt nur eine den Pinaceae konvergente Gruppe darstellen. Wieviel auf das „hohe geologische

Alter" der Araucariaceae gegenüber dem rezenteren Auftreten der Pinaceae zu geben ist, steht dahin; doch verweise ich darauf, daß die Reste der Monocotylen (Palmen) unzweifelhaft aus älteren Schichten vorliegen, als die nun zweifelsfrei als anzestraler nachgewiesenen niedersten Dicotylen (Ranales).

7. Schon bei den Gymnospermen setzt die Blütenreduktion ein: Die Taxaceae haben positive Serum-Reaktion mit den Pinaceae gegeben. Bei Taxus ist demnach die männliche Blüte ursprünglicher gebaut als die weibliche (interessanter Gegensatz zu Cycas).

8. Der azyklische Bau und die Dreizähligkeit der Blütenhülle sind nun nachgewiesenermaßen den Helobiae von den Ranales überkommen. Magnolia hat mit Alisma, nicht aber z. B. mit Potamogeton reagiert. Demnach sind die Alismataceae, Butomaceae, Juncaginaceae die primärsten Monocotylen.

9. Auch bei den Monocotylen setzt die Blütenreduktion, und zwar erkennbar in zwei Reihen, ein: die Pandanales, denen die von den Helobiae abzulösenden Potamogetonaceae zugezählt werden müssen, zeigen Apokarpie unter Reduktion des Perianths, die andere, zu den Farinosae—Liliiflorae aufsteigende Reihe zeigt Synkarpie unter Beibehaltung des Perianths.

10. Das Normaldiagramm der Spadiciflorae und Spathiflorae ist das fünfkreisige Liliaceen- etc. Diagramm; in Anbetracht dessen, daß dieses Diagramm bereits bei echten Helobiae vorliegt, ist seine Bezeichnung als typisches Monocotylen-Diagramm auch in genetischer Hinsicht durchaus gerechtfertigt. Die Reduktion bei den Spadiciflorae und Spathiflorae liegt auf der Hand; eine Annäherung der Araceae an die Piperales unter den Dicotylen kann garnicht in Frage kommen.

11. Auch die Ableitung der Gramineenblüte vom Liliaceen-Diagramm ist gerechtfertigt.

12. Innerhalb der Ranales versagt die jetzt beliebte Einteilung nach den Sekretzellen. Es ist natürlicher, in dieser Reihe, die wohl danach in zwei Reihen zu trennen wäre, die azyklischen resp. hemizyklischen Formen den euzyklisch vielkreisigen (resp. bei den Myristicaceae, Lactoridaceae reduzierten) entgegenzustellen. — Die Gefahr einer Überschätzung der anatomisch-systematischen Methode liegt hier wie anderwärts nahe.

13. Die einst von mir gegebene, sich an Eichler anlehnende Erklärung des Lauraceen-Gynoeceums als aus drei Blättern synkarp ziehe ich ausdrücklich zurück. Sie war eines der besten Beispiele einer Suggestion durch den überwiegenden Einfluß eines Lehrers. Denn ich habe einst in meinen Darstellungen ausdrücklich betont, daß, wenn bei den Lauraceae mehrere Karpelle als Abnormität auftreten, diese neben dem normalen Fruchtknoten als stielförmige Ge-

bilde aus der Blütenaxe herauskommen. Dies ist der klarste Beweis für die Apokarpie der Lauraceae, mit andern Worten dafür, daß deren normaler Fruchtknoten ein einziges, in sich geschlossenes Karpellblatt ist. Die häufig auftretende Dreilappigkeit der Narbe erklärt sich ohne weiteres aus dem Druck, innerhalb der nach der Dreizahl gebauten Blüte. — Die Lauraceae verhalten sich demnach zu den Monimiaceae genau ebenso, wie die Leguminosae zu den Rosaceae.

14. Höchst beachtenswert ist die Serum-Reaktion der Magnoliaceae etc. zu den Aristolochiaceae. In Anbetracht der bisher völlig isolierten Stellung der Aristolochiaceae (sie sind eine der ganz wenigen Familien, bei denen die Bearbeitung in den „Natürlichen Pflanzenfamilien" auch nicht einmal eine Vermutung über den Anschluß enthält) ist dies Ergebnis wertvoll. — Damit ist aber nur bezüglich dieser einen „Hysterophyten"-Familie (die demnach den Namen Hysterophyt garnicht verdient) etwas ausgesagt; die im System angeschlossenen Rafflesiaceae, Balanophoraceae etc. sind noch ebenso unsicherer Stellung, wie bisher.

15. Der in vergleichend-morphologischer Beziehung überaus wichtige Übergang von der 3- zur 5-Zahl der Blüten vollzieht sich in der Hauptreihe des Stammbaums im eng geschlossenen Formenkreis der Berberidaceae-Ranunculaceae. Da aber die Centrospermae mit 5-Zahl zu beginnen scheinen (Phytolaccaceae), da in der Mitte des Centrospermenastes (Rumicoideae etc.) 3-Zähligkeit herrscht, die bei weiter entwickelten Formen (Urticales) wieder der 5-Zähligkeit weicht, so dürfte das Merkmal der 3-Zähligkeit für phylogenetische Betrachtungen keine überwiegende Bedeutung haben. Die 5-Zähligkeit scheint in mehreren Reihen erworben zu sein, wie sie ja auch bekanntlich in vielen Familien wieder abändert.

16. Die morphologische Natur der Blumenblätter und ihre Bedeutung für die phylogenetische Systematik ist sehr verschieden. Wie bisher allgemein angenommen, sind die primärsten Blüten der Siphonogamen perianthlos resp. nur mit indifferentem Protagma versehen (Coniferae); die Perianthentwickelung der Bennettitaceae und Magnoliaceae ist als Konvergenz zu deuten. Bei diesen ist aber gleicherweise (insbesondere bei den Ranales, um nur von rezenten Formenkreisen zu sprechen) jedes Perianthblatt und demnach bei den höheren Formen klarerweise auch jedes Blumenblatt im allgemeinen ein ganzes Phyllom. Bei den heterochlamydeischen höheren Archichlamydeen, die sich von den heterochlamydeischen Ranales ableiten (z. B. Rosaceae) ist die Sache natürlich genau ebenso. Dagegen liegt in den Centrospermen eine Reihe vor, die von Anfang an (Phytolaccaceae) typisch homochlamydeisch ist. Von ihr bilden die höchsten Caryophyllaceae

(Silenoideae) die Spitze; deren Heterochlamydie ist demnach prinzipiell verschieden von der Heterochlamydie der andern Archichlamydeae und ich verweise mit Nachdruck auf die früheren Untersuchungen meiner Schüler, nach denen die Blumenblätter der Silenoideae aus serialem Dedoublement der äußeren Stamina entstanden sind. Gleichfalls mache ich darauf aufmerksam, daß die vom Centrospermenstamm abzweigenden Amentales und Urticales primär monochlamydeisch sind, daß sich also ihre Ableitung von einem heterochlamydeischen Formenkreis nicht bestätigt.

17. Es ist anzunehmen, daß die 4-zähligen, als Rhoeadales zusammengefaßten Formen der Parietales von 5-zähligen abstammen. Unter den Rhoeadales sind die Capparidaceae die primärsten; ihnen stehen die Cruciferae am nächsten. Die Papaveraceae dagegen haben sich von den Capparidaceae aus als besonderer Zweig entwickelt.

18. In Anbetracht der nahen Verwandtschaft der Rosaceae mit den Ranunculaceae ist durch neue entwickelungsgeschichtliche Untersuchungen die Entstehung des polyandrischen Rosaceen-Andröceums (ob zyklisch oder azyklisch?) von neuem zu prüfen; ein gleiches gilt von den polyandrischen Blüten der niedersten Parietales, bei denen jetzt schon teilweise Azyklie angenommen wird. Zu diesen Untersuchungen ist die objektive Bornsche Plattenmethode heranzuziehen, denn die bisher geübte Lupenbeurteilung im Entstehen begriffener Gewebehöcker ist bei polyandrischen Blüten absolut unzuverlässig, und entwickelungsgeschichtliche Daten über solche werden, wie ich aus vielfältiger Erfahrung weiß, fast in der ganzen Systematik beistimmend zitiert, wenn sie zu den Meinungen des Bearbeiters passen, andernfalls aber ohne Bedenken angezweifelt.

19. Die von Schumann aufgenommene Ansicht Bentham-Hookers über die nahe Zusammengehörigkeit der Aizoaceae und Cacteae ist irrig; hier liegt typische Konvergenz vor.

20. Über die Pleiophylie der Sympetalen kann kein Zweifel mehr herrschen. Wie kein Anschluß der Tubiflorae, die unter sich teils sehr nahe verwandt befunden wurden, an die unterständigen Formen gefunden werden konnte, so geben nicht einmal sich scheinbar so nahe stehende Familien wie die Compositae und Dipsaceae miteinander Reaktionen.

Druck von R. Nischkowsky in Breslau.

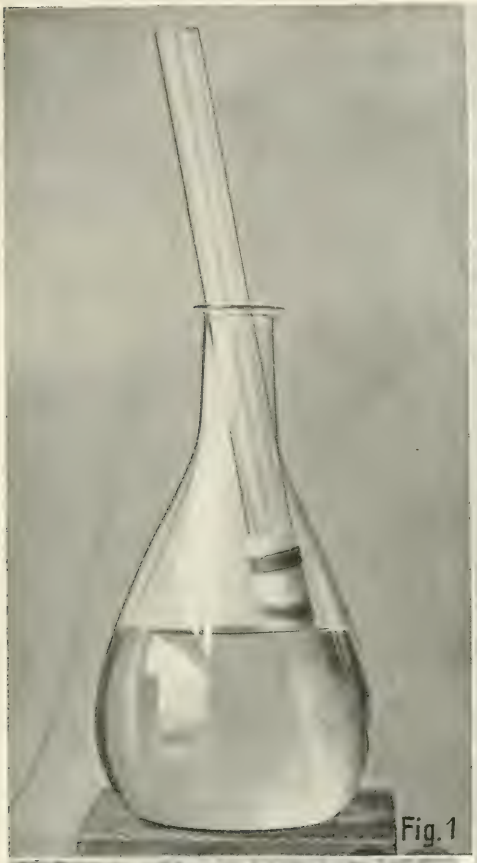


Fig. 1

Fig. 2

Fig. 3

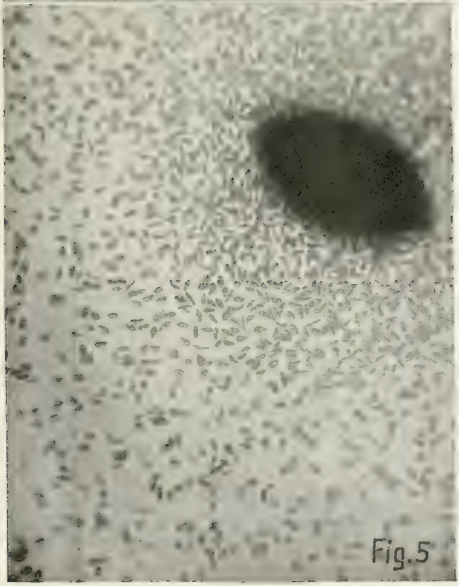
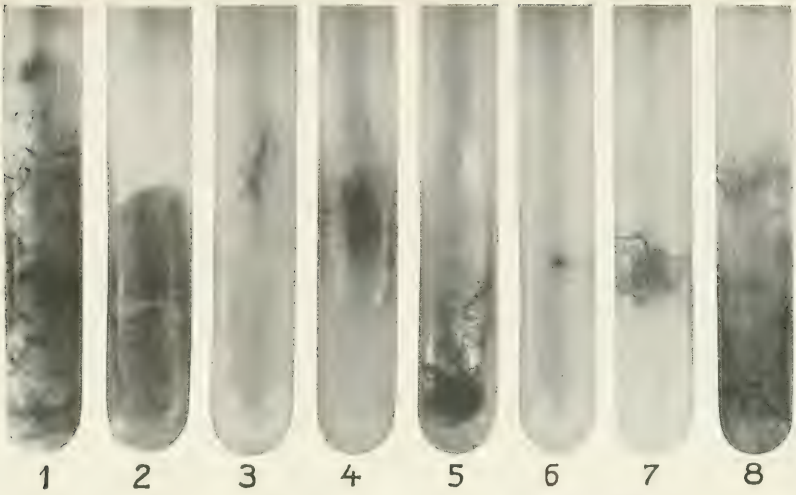


Fig. 5

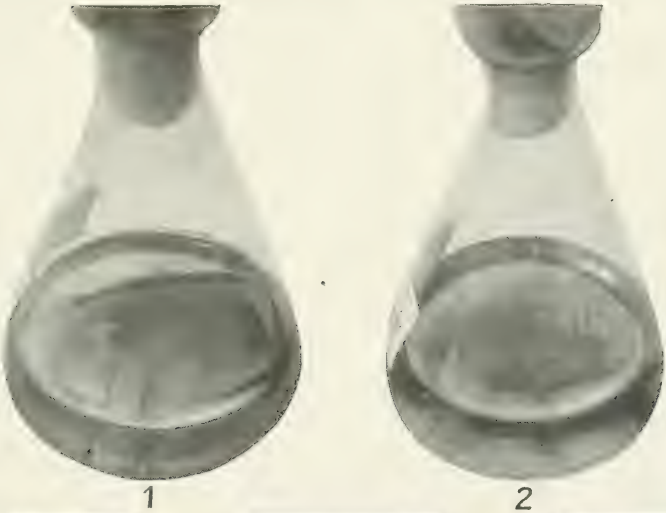
Fig. 4

E. Pringsheim phot. *Louis Gerstner, Kunstanstalt, Leipzig.*

I.



II.



III.

E. Pringsheim phot. *Louis Gerstner, Kunstanstalt, Leipzig.*

Beiträge

zur

Biologie der Pflanzen.

Begründet von

Professor Dr. Ferd. Cohn,

herausgegeben von

Dr. Felix Rosen,
Professor an der Universität Breslau.

Zwölfter Band. Zweites Heft.
Mit vier Tafeln.

Breslau 1914.
J. U. Kern's Verlag
(Max Müller).

Inhalt des zweiten Heftes.

Seite

Beiträge zur Anatomie und Morphologie der Mangrove-Pflanzen, insbesondere ihres Wurzelsystems. Von Otto Liebau 181

Kleinere Mitteilungen aus dem Kgl. Botanischen Institut in Königsberg:

1. Zur Frage der „Wuchsenzyme". Von Carl Mez und Horst Mathissig 214
2. Über die physiologische Bedeutung der Mohn-Alkaloide. Von Carl Mez und Arthur Müller 216
3. Sero-diagnostische Untersuchungen über die Verwandtschaften innerhalb der Pflanzengruppe der Ranales. Von Carl Mez und Leo Lange 218

Beiträge zur Phylogenie der Monokotylen, gegründet auf der Embryosackentwicklung apokarper Nymphaeaceen und Helobien. Von Johannes Nitzschke 223

Die Abhängigkeit der Chlorophyllbildung von der Wellenlänge des Lichtes. Von Arnold Schmidt. (Mit Tafel III, IV) 269

Zur Kenntnis der Gattung Cylindrospermum. Von Rudolf Glade. (Mit Tafel V, VI) 295

Kleinere Mitteilungen aus dem Kgl. Botanischen Institut in Königsberg:

4. Sero-diagnostische Untersuchungen über die Verwandtschaften innerhalb der Pflanzengruppe der Parietales. Von Carl Mez und Alfred Preuß 347

Beiträge zur Anatomie und Morphologie der Mangrove-Pflanzen, insbesondere ihres Wurzelsystems.

Von **Otto Liebau.**

Einleitung.

Über die eigenartige Vegetation der Mangrove sind, abgesehen von einigen älteren, unvollkommenen und zum Teil sogar unrichtigen Darstellungen, erst seit den 80er Jahren des vorigen Jahrhunderts eine Anzahl Arbeiten — vor allem von Goebel[1]), Schimper[2]), Karsten[3]) — veröffentlicht worden, die uns ein klares Bild von dem Habitus und der Lebensweise des Mangrovewaldes geben. Hiernach bewachsen die Mangrovewälder in allen feuchten, tropischen Gebieten die seichten Küsten in Buchten und Flußmündungen überall da, wo die Brandung nicht zu stark ist. Sie befinden sich ganz im Bereiche der Flutbewegungen, sodaß sie sich zur Flutzeit aus dem Meere, zur Ebbezeit aus einem schlammigen, stinkenden Untergrunde erheben. Da nun in diesem schlammigen Boden infolge des steten Zersetzungs- und Verwesungsprozesses nicht genügend Sauerstoff vorhanden ist, so müssen die Wurzeln die zur Atmung nötige Sauerstoffmenge aus der Luft entnehmen. Zu diesem Zwecke bilden sie höchst eigenartige, bei den verschiedenen Arten ganz verschieden gestaltete Wurzelauswüchse, die aus dem Wasser oder dem Schlamme geotropisch nach oben wachsen und somit den im sauerstoffarmen Boden kriechenden Wurzeln gestatten, mit der Atmosphäre in Verbindung zu treten. Daß jenen Gebilden die Rolle zukommt, dem Wurzelsystem als Atmungsorgane zu dienen, wurde zuerst von Goebel[4]) vermutet. Einen experimentellen Beweis konnte er allerdings nicht erbringen, sondern er stützte seine Annahme auf die Standortsverhältnisse, den anatomischen Bau und die Kulturerfahrungen. Erst durch Versuche von

[1]) K. Goebel, Pflanzenbiologische Schilderungen. Bd. 1. Marburg 1889.

[2]) A. F. W. Schimper, Die indo-malayische Strandflora. Botanische Mitteilungen aus den Tropen. Heft 3. Jena 1891.

[3]) G. Karsten, Über die Mangrove-Vegetation im Malayischen Archipel. Bibliotheca botanica. Heft 22. Cassel 1891.

[4]) Goebel, Über die Luftwurzeln von Sonneratia. Ber. d. D. bot. Ges. IV 1886. S. 254.

Karsten und Greshoff[1]) wurde die Funktion als Luftwurzeln wirklich nachgewiesen. Da sich nun die oben genannten Autoren, nach ihren eigenen Angaben, nur oberflächlicher mit dem anatomischen Bau der Mangroveluftwurzeln befaßten und sich damit begnügten, zu untersuchen, in wieweit die Struktur in den einzelnen Fällen das Vorhandensein eines Gasaustausches ermöglichte, und da auch bisher noch keine weitere zusammenfassende Darstellung erschienen ist, so dürfte wohl eine eingehende anatomische Untersuchung dieser Wurzeln eine lohnende Aufgabe sein. Auf Grund reichlichen, von Herrn Professor Karsten in den Jahren 1888—1890 gesammelten und mir zur Verfügung gestellten Materiales war ich in der Lage, mich über den Bau der hauptsächlichsten Vertreter der asiatischen Mangrove-Vegetation zu unterrichten. Meine vorliegende Arbeit verfolgt daher den Zweck, eine möglichst erschöpfende, zusammenfassende Darstellung von dem Wurzelbau der einzelnen Vertreter der asiatischen Mangrove-Vegetation zu geben. Hierbei werde ich in Anlehnung an die vorhandene Literatur diejenigen Arten, die schon ausführlicher behandelt worden sind, nur kurz streifen, indem ich die Unstimmigkeiten und Verschiedenheiten, die bei einzelnen Autoren bestehen, zu berichtigen und in Einklang zu bringen suche. Die überhaupt noch nicht oder nur sehr oberflächlich beschriebenen Wurzeln sollen jedoch genauer analysiert und eingehend betrachtet werden. Die Anordnung nun, in der ich meine Untersuchungen über das ziemlich artenreiche Material hier folgen lasse, ist so getroffen, daß die in der äußeren Erscheinung, sowie im inneren Aufbau der in Rede stehenden Sondergebilde ähnlichen Spezies unmittelbar hintereinander behandelt werden. Von einer festumgrenzten Gruppierung der einzelnen Arten in größere Abschnitte habe ich jedoch abgesehen, da eine solche Einteilung ohne Künstelei den wirklichen Befunden nicht überall angepaßt werden könnte.

Avicennia officinalis.

Die reichverzweigten, annähernd horizontal unter der Bodenoberfläche verlaufenden Wurzeln erzeugen in ungefähr regelmäßigen Abständen zahlreiche, negativ geotropisch gerichtete, aus dem Boden herauswachsende Luftwurzeln, deren Länge nach meinen Befunden zwischen 15 und 35 cm schwankt, die nach Angaben von Schmidt[2]) aber auch bis ½ m lang werden können. Im allgemeinen sind diese Gebilde, die den so eigenartigen Charakter dieser Vegetation zum Teil bedingen, einfach und unverzweigt; zuweilen tritt jedoch eine

[1]) Karsten, l. c., S. 42.
[2]) Joh. Schmidt, Vegetationsbilder III. Reihe. Heft 7 und 8. Jena 1906.

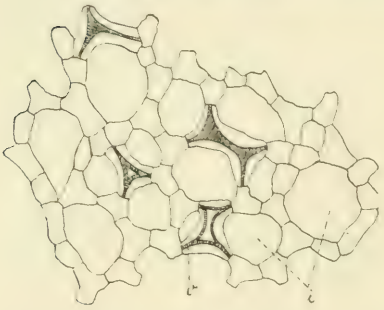
Gabelung ein, die wahrscheinlich durch Verletzung der Spitze hervorgerufen wird.

Schon bei rein äußerlicher Betrachtung einer solchen Luftwurzel bemerkt man eine sehr auffallende Verschiedenheit in der Beschaffenheit ihres oberen und unteren Teiles, der bisher in der Literatur noch nicht erwähnt ist. Der obere, aus dem Substrat sich erhebende Teil der Luftwurzel ist mit feinen Querrillen versehen und über und über mit höckerartigen Erhebungen bedeckt, die auffallend an Lenticellen erinnern und, wie die spätere Betrachtung zeigen wird, auch tatsächlich analog gebaut sind, sodaß man wohl ohne Bedenken den Namen Lenticelle auf die in Rede stehenden Gebilde übertragen kann. Dagegen weist der untere, im Schlamm oder Wasser befindliche Teil eine beinahe ganz glatte, nur von einzelnen Längsfurchen durchzogene Oberfläche auf, die niemals mit Lenticellen versehen ist. An dem unteren Teile entstehen endogen kleinere, horizontale Seitenwurzeln, von denen wiederum zahlreiche, fadenförmige Würzelchen nach allen Seiten hin ausgehen. Dieser Unterschied zwischen dem oberen und unteren Teile der Luftwurzel tritt noch mehr hervor bei der anatomischen Betrachtung, der wir uns jetzt zuwenden wollen.

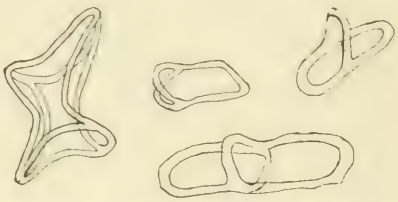
Ein, wenig unterhalb der Spitze geführter, Querschnitt zeigt deutlich das Bild eines typischen Wurzelquerschnittes. Im Innern liegt ein ziemlich dünnwandiges, nur mit sehr kleinen dreieckigen Intercellularen versehenes Mark. Dieses wird umgeben von einem in dieser Zone erst schwach entwickelten Holzring, der an seinem Innenrande sehr deutlich die in zentripetaler Reihenfolge entstandenen Gefäßprimanen erkennen läßt. Nach außen von dem hier noch gewellten Kambiumring folgt dann eine schmale Bastzone. In ihr treten am äußeren Rande der einzelnen Phloemteile, die auf abwechselnden Radien mit den Vasalprimanen liegen, kleine Nester von Steinzellen auf. Der Zentralzylinder wird durch eine scharf hervortretende Endodermis, deren Zellen in tangentialer Richtung zweimal länger gestreckt erscheinen als in radialer Richtung, von der primären Rinde getrennt. Die primäre Rinde selbst ist es nun, die von allen Gewebezonen der Wurzel die interessantesten und für die eigenartige Aufgabe der Luftwurzeln bedeutsamsten Verhältnisse aufzuweisen hat. Sie trägt den Charakter eines lockeren Schwammgewebes und besteht aus meist 6—8eckigen, isodiametrischen Zellen, die in der Regel nur mit dreien ihrer Wände an benachbarte Zellen anstoßen und somit zahlreiche große Intercellularen bilden. Letztere sind, wie man auf Längsschnitten sieht, in der Richtung der Achse gestreckt. Außer diesen großen Intercellularen bilden die Zellen da, wo drei zusammenstoßen, noch kleine, rundliche Intercellularen, die ebenfalls auf Längsschnitten deutlich in Erscheinung treten. In diesem Gewebe

haben schon Goebel[1]) und Schenck[2]) eigenartige, besonders große, mit starken Verdickungsleisten besetzte Zellen bemerkt und näher beschrieben. Allerdings scheinen mir die Darstellungen dieser beiden Autoren von der Gestalt der Verdickungsleisten nicht ganz verständlich zu sein und auch den tatsächlichen Verhältnissen nicht vollkommen zu entsprechen. Nach Schenck sind „die meisten Zellen mit eigentümlichen, nach innen vorspringenden Verdickungsfasern oder Bändern, die von den Berührungsstellen benachbarter Zellen ausgehen", versehen. Goebel hingegen sagt:

> „Die Zellen sind mit starken Verdickungsleisten besetzt, die von den Punkten ausgehen, wo die betreffende Zelle sich anderen ansetzt und sich an einem Punkte der Zellwand vereinigen, sodaß sie in einer halbierten Zelle, die mit vier anderen in Verbindung steht, auf dem Querschnitt die Form eines vierarmigen Kreuzes darzubieten pflegen. Bei anderen geht die Verdickung soweit, daß nur einige Tüpfelstellen freibleiben."



Avicennia. Querschnitt durch den oberen Teil der Luftwurzelrinde. Vergr. 140. i = Intercellularräume; v = Verdickungen.



Avicennia. Stützgestelle. Vergr. 270

Nach meinen Beobachtungen erstreckt sich die Verdickung niemals auf die ganze Zelle, wie es Goebel beschreibt, noch besteht die Verdickung aus einzelnen kurzen Leisten, sondern es springen, von der Fläche der Zellwände ausgehend, unter sich zusammenhängende und geschlossene Leisten, Raumfiguren von verschiedenster Gestaltung bildend, ins Lumen der betreffenden Zellen vor; und zwar sind diese Verdickungsfiguren derart in der betreffenden Zelle orientiert, daß die Umbiegungsstellen, die zuweilen auch zu scharfen Ecken werden können, an diejenigen Punkte verlegt sind, wo die Zelle mit Nachbar-

---

[1]) Goebel, Über die Luftwurzeln von *Sonneratia*. Ber. der deutsch. Bot. Ges. Bd. IV. 1886, S. 253.

[2]) Schenck, Über die Luftwurzeln von *Avicennia tomentosa* und *Laguncalaria racemosa*. Flora 1889, S. 84.

zellen zusammenstößt. Der Querschnitt ergibt dann, je nach der Gestaltung der Zellen, drei- oder vierarmige Verdickungsfiguren, wie auf dem beistehenden Querschnitt zu sehen ist. Um die räumliche Gestalt jener Gebilde festzustellen, wandte ich das Schultzesche Macerationsverfahren an, sodaß die Gestalt der einzelnen Zellen der primären Rinde und besonders scharf die des Verdickungsskelettes hervortrat. Die nebenstehenden Abbildungen zeigen die hauptsächlich vorkommenden Formen. So verschieden sie auch gestaltet sind, so wirken sie doch alle als elastische Federn, die einem von jeder Seite kommenden Drucke nachgeben und sich nach Aufhören der Druckwirkung wieder in die alte Lage stellen. Diese mit solchen elastischen Aussteifungen versehenen Zellen liegen in der primären Rinde ziemlich zerstreut, und zwar stets an Stellen, wo drei große Intercellularen zusammenstoßen und somit die Möglichkeit des Zerdrücktwerdens besonders nahe liegt. Sie tragen somit wesentlich zur Stützung des Rindengewebes und zur Offenhaltung der für die Luftzirkulation nötigen Intercellularen bei. Die soeben angedeutete Vermutung über die Funktion und ökologische Bedeutung der beschriebenen Gebilde gewinnt noch dadurch an Wahrscheinlichkeit, daß die mikrochemische Untersuchung der Substanz dieser eigenartigen Wandverdickungen deutlich den Holzcharakter erkennen ließ.

Nach außen wird die Rinde von einer aus acht bis zehn Lagen bestehenden Korkschicht abgeschlossen. Dieses Korkgewebe weicht allerdings von dem normalen, sonst in der Pflanzenwelt vorkommenden Kork insofern ab, als es die typische Holzreaktion mit Phloroglucin und Salzsäure aufweist. Somit müßte man eigentlich zu der Annahme gelangen, daß das besprochene Gewebe aus verholzten Zellen besteht, wie das auch Karsten[1]) tut, indem er von einem peripherischen Holzring spricht. Stellt man indessen eine Kontrolle an, indem man konzentrierte Schwefelsäure auf dieses Gewebe einwirken läßt, so wird man andererseits wieder dazu neigen, es als Kork anzusprechen, da es durch die Einwirkung dieses Reagens nicht zerstört wird.

Bei einem tiefer gelegten Querschnitt von 7 mm Durchmesser zeigen sich im großen und ganzen dieselben Befunde. Es mögen hier die Dickenverhältnisse der einzelnen Teile genauer angegeben werden, um den Gegensatz zu dem später zu betrachtenden unteren Teile der Luftwurzel hervorzuheben. Das Mark, dessen Durchmesser 1,2 mm beträgt, zeigt nur insofern eine Verschiedenheit von demjenigen des oben beschriebenen Querschnittes, als die Zellwände etwas dicker und namentlich die Intercellularen etwas größer und oft vier- statt drei-

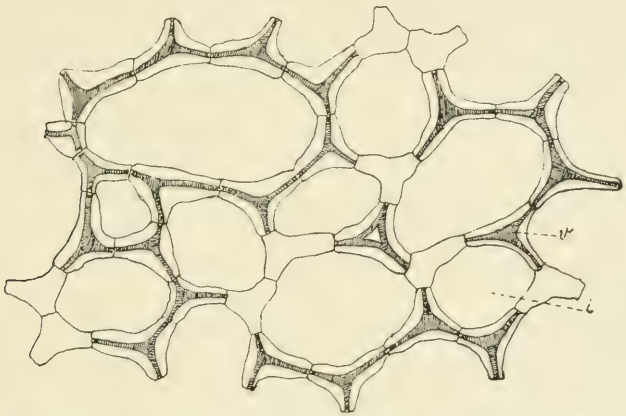
[1]) Karsten, l. c., S. 50.

eckig sind. Zwischen den Markzellen treten hier, ziemlich zahlreich, Zellen mit stark verholzten, von Tüpfeln durchbrochenen Wänden auf, die meist nicht isodiametrisch sind wie die übrigen Markzellen, sondern mehr längs der Wurzelachse gestreckt. Vielleicht sollen sie mit zur Festigung beitragen, wofür auch der Umstand zu sprechen scheint, daß sie nur im Mark der Luftwurzel, und zwar besonders zahlreich in den in die Luft ragenden Teilen derselben, niemals aber in den Erdwurzeln vorkommen. Der das Mark umschließende Holzring erreicht hier die beträchtliche Stärke von 0,7 mm. Er besteht aus stark verdickten zumeist ungefächerten Holzfasern, während Holzparenchym nur spärlich vorhanden ist. In diese Grundmasse sind ziemlich viele, weitlumige Tüpfelgefäße eingelagert. Durchsetzt wird der Holzring von mehrreihigen Markstrahlen, die aus regelmäßig in radialen Reihen angeordneten, getüpfelten Holzparenchymzellen bestehen. In dem nur wenig Zellreihen starken Bastring zeigen sich nicht mehr wie in dem oben beschriebenen, dicht unter der Spitze geführten Querschnitte, einzelne Steinzellnester in der Rinde; vielmehr sind in dieser Region der Luftwurzel jene Steinzellgruppen bereits zu einem 1—3schichtigen Sklerenchymring geschlossen, dessen Elemente Steinzellen und verholzte Bastfasern sind. Der Gesamtdurchmesser des Zentralzylinders beträgt 3 mm. Die Rinde, die denselben Bau hat wie bei dem oberen Querschnitt, bildet auch hier die Hauptmasse der Luftwurzel. Der Korkmantel ist sehr stark entwickelt und besteht aus 15—20 Lagen kleiner, dickwandiger, tafelförmiger Zellen. Um der Atemluft den Durchtritt zu gestatten, ist er von zahlreichen Lenticellen durchbrochen, die wir später noch eingehender betrachten wollen.

Die unteren, im Schlamm oder Wasser befindlichen Teile der Luftwurzel unterscheiden sich anatomisch wesentlich von den über die Erde vortretenden. Der Zentralzylinder ist hier zugunsten der Rinde viel schwächer entwickelt. Bei einem Gesamtdurchmesser von wiederum 7 mm erreicht der Zentralzylinder nur 1,4 mm, wovon der Holzring 0,25 mm einnimmt. Um den Vergleich mit den Verhältnissen beim oberen Teil der Luftwurzel zu erleichtern, möge folgende Tabelle Platz finden, deren Zahlen sich zwar auf Einzelbeobachtungen beziehen, die aber im großen und ganzen die Dimensionsverhältnisse der einzelnen Gewebearten ganz allgemein veranschaulichen.

Höhe des gelegten Schnittes	Gesamtdurchmesser	Zentralzylinder	Holzring
oberer Teil	7 mm	3 mm	0,7 mm
unterer, submerser Teil	7 =	1,4 =	0,25 =

Es ergibt sich also, daß der Zentralzylinder in den unteren Teilen der Luftwurzel kaum halb so stark ist wie oben, was vor allem auf die geringe Ausbildung des Holzringes zurückzuführen ist, während das Mark, wie sich leicht berechnen läßt, nur wenig schwächer ist. In dem hier ebenfalls nur spärlich entwickelten Bast ist der Sklerenchymring nur einreihig. In der Rinde sind die einzelnen Zellen infolge tangentialen und radialen Druckes mehr gestreckt und, da sie fast stets mit drei anderen Zellen zusammenstoßen, nehmen sie die Gestalt eines dreistrahligen Sternes an. Die Intercellularen erreichen



Avicennia. Querschnitt durch den unteren Teil der Luftwurzelrinde. Vergr. 140. i = Intercellularräume; v = Verdickungen.

somit eine sehr beträchtliche Ausdehnung. Offenbar, um dem innerhalb der Schlamm- oder Wassermasse herrschenden, wahrscheinlich nicht unerheblichen Drucke zu begegnen, hat die Pflanze in diesem Teile der Luftwurzeln weit mehr Rindenzellen mit jenen eigenartigen, elastischen Gestellen ausgerüstet. Die große Anzahl der letzteren bringt es auch mit sich, daß die Verdickungskörper untereinander in innigerem Zusammenhange stehen, wie es die beistehende Zeichnung zur Anschauung bringen soll. Die Korkschicht ist viel schwächer und setzt sich aus 5—7 übereinander liegenden Zellen zusammen, die im Gegensatz zu dem am oberen Teil befindlichen Kork aus weitlumigen, zartwandigen Zellen bestehen. Diesem Unterschiede in der Ausbildung der Korkzellen könnte man wohl eine ökologische Bedeutung beilegen. Die Funktion, die ein Korkgewebe in erster Linie hat, nämlich die Pflanze gegen zu starke Transpiration zu schützen, kommt ja nur bei den oberirdischen, der Verdunstung ausgesetzten Teilen der Pflanze in Frage; an diesen bildet sonach ein dichter, massiger Korkbelag eine zweckmäßige Einrichtung. An submersen Teilen dagegen würde solche schützende Hülle überflüssig sein und wenige weitlumige Periderm-

zellen reichen zum Schutz der Rinde gegen äußere mechanische Einwirkung völlig aus.

Bei alten Luftwurzeln, die, nach dem vorhandenen Material zu urteilen, einen Durchmesser von 20 mm erreichen, ist ein ganz anormales Dickenwachstum zu bemerken. In den 1—2 Zellschichten zwischen Endodermis und dem gemischten Sklerenchymring entsteht noch während das Kambium des ersten Holzringes in Tätigkeit ist, ein neuer Kambiumring. Dieser bildet zunächst ungefähr gleichviele Holzzellen nach innen wie Bastzellen nach außen. In letzteren entsteht schon sehr frühzeitig am äußeren Rande ein gemischter, geschlossener Sklerenchymring. Erst nach Fertigstellung dieses Sklerenchymringes werden dann vom Kambium fast ausschließlich Holzzellen nach innen gebildet, bis ein zweiter, ebenso dicker Holzring entsteht wie der erste. Hieran schließt sich in gleicher Weise ein dritter usw. In dem vorhandenen Material waren bis vier Holzringe ausgebildet. Diese einzelnen, also extrafascikular entstehenden Holzringe sind alle gleich stark und erreichen eine Dicke bis zu 0,7 mm. Sie sind im allgemeinen in sich geschlossen und wechseln mit Bastringen ab. Bisweilen werden aber, namentlich an Stellen, wo die Markstrahlen sich befinden, zwischen den einzelnen Holzringen verholzte brückenartige Verbindungen hergestellt, indem an den betreffenden Stellen die Kambium- und Bastzellen zu derbwandigen Dauerelementen werden. Hierdurch wird der Bastring in einzelne isolierte Bündel zerlegt. Da dieses niemals bei Vorhandensein von ein bis zwei Zuwachszonen, sondern erst bei drei bis vier Zuwachszonen auftritt, so muß diese brückenartige Holzverbindung erst nachträglich erfolgen.

Ein solcher extrafascikularer Zuwachsring, allerdings nur halb so stark wie der innere Ring, wird auch angelegt bei einer Gabelung des aus dem Substrat hervorragenden Teiles der Luftwurzel, aber nur in der Zone von je einem Zentimeter unterhalb und oberhalb der Gabelstelle, offenbar, um der Gabel einen größeren Halt zu geben. Die Teilung bei Anlegung einer solchen Gabelung vollzieht sich nun folgendermaßen. Der innere Holzring nimmt allmählich eine ellipsenförmige Gestalt an und von den beiden diamentral gegenüber liegenden Endpunkten der kleinen Achse wird der Holzteil nach innen ins Mark vorgeschoben, bis sich beide Holzvorsprünge vereinigen und das Mark somit in zwei gleiche Teile zerlegen, die die Mittelpunkte der beiden neuen Luftwurzeln werden. Die beiden Holzringe buchten sich dann nach innen ein, und so kommt schließlich die Trennung des Holzes in zwei Äste zustande.

Nachdem ich nunmehr den anatomischen Bau der Luftwurzeln eingehend beschrieben und mich bemüht habe, besonders diejenigen Eigentümlichkeiten hervorzuheben, die im Dienste der Durchlüftung

des Wurzelsystems stehen, gehe ich jetzt dazu über, die schon oben kurz gestreiften Lenticellen einer näheren Betrachtung zu würdigen, vor allem deshalb, weil über ihre Entstehung noch verschiedene Ansichten herrschen. Nach Schenck[1]) „erzeugt das Phellogen zur Bildung der Lenticellen lokal nach innen zu zahlreiche radiale Reihen von kugligen Zellen mit engen Intercellularen, die einen rundlichen, nach außen sich vorwölbenden und die Korkschicht sprengenden Gewebekörper bilden. Nach außen sind die Lenticellen mit einer dünnen Korkschicht bedeckt."

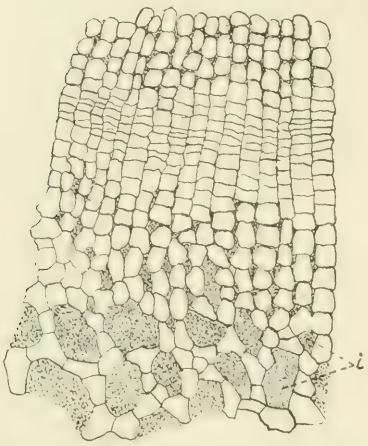
Goebel[2]) dagegen beschreibt die Lenticellen wie folgt: „Die Lenticelle besteht aus folgenden Teilen: 1. aus einer Anzahl locker zusammenhängender, senkrecht zur Rindenoberfläche verlaufender Zellreihen, deren Endzellen sich ablösen wie die Gonidien einer Gonidienreihe von Cystopus, während an der Basis jeder Zellreihe perikline Teilungen stattfinden, die nicht auf eine einzige Initialschicht beschränkt sind. 2. Unterhalb der Zellreihe befindet sich eine halbmondförmige Zone von Gewebe, die an Alkoholmaterial sich von dem übrigen Rindengewebe leicht unterscheidet durch braune Färbung, die darauf beruht, daß im Zellinhalt tropfenartige, braune Inhaltskörper auftreten." Aus dieser Beschreibung geht, glaube ich, deutlich hervor, daß Goebel von der Entstehung der Lenticelle gerade die entgegengesetzte Meinung wie Schenck hat, nämlich, daß das Teilungsgewebe stets in der inneren Partie der Lenticelle liegt und antikline Reihen von Füllzellen nach außen hin abscheidet. Bei mikroskopischer Betrachtung einer Anzahl von Lenticellen hat man zunächst den Eindruck, als ob beide Autoren Recht haben. Bald erscheint uns die Bildung der Lenticellen von innen nach außen, bald umgekehrt zu erfolgen. Und da nun einige von dünnen Korkschichten durchzogen sind, andere aber solcher entbehren, so erhalten wir die verschiedensten Bilder, die scheinbar kaum auf eine einheitliche Entstehung der Lenticellen zu schließen erlauben. Und doch glaube ich, daß diese Gebilde trotz des verschiedenen Aussehens von gleichem Ursprung und einheitlich gebaut sind. Die Lenticellenbildung beginnt nach meinen Beobachtungen von einem Phellogen, das zunächst in zentripetaler Richtung eine Anzahl Zellen in der von Schenck angegebenen Weise entwickelt. Aber bald schlägt die zentripetale Zellteilung in die entgegengesetzte, zentrifugale um, sodaß die Zellbildung von nun an nach außen hin erfolgt, indem bei den sukzessiven Zellteilungen immer die innerste Zelle meristematisch bleibt. Nach einiger Zeit findet

---

[1]) Schenck, l. c. S. 84.

[2]) Goebel, Über die Luftwurzeln von *Sonneratia*. Ber. d. d. bot. Ges. IV, 1886, S. 253.

dann wieder die Rückkehr zur zentripetalen Ordnung statt. Dieser Umschlag aus der zentripetalen in die zentrifugale Ordnung und umgekehrt wiederholt sich von Zeit zu Zeit ohne strenge Regelmäßigkeit. Und so findet man auf Querschnitten durch Lenticellen, wie die beistehende Figur einen Teil eines solchen Querschnittes zeigt, regelmäßig radial angeordnete Reihen von kugligen, locker zusammenhängenden Zellen, deren Meristemschicht mehr innen oder außen liegt, je nachdem die Zellbildung zuletzt in zentrifugaler oder zentripetaler Ordnung erfolgte. In den nach außen abgeschiedenen Zellen treten namentlich bei kleineren, an jüngeren Luftwurzeln befindlichen Lenticellen ab und zu verkorkte, schmale Zwischenstreifen auf, die meistens ganz am äußeren Rande der Lenticelle liegen, sodaß sie dieselbe nach außen hin abschließen, seltener in tieferen Schichten. Bei den großen, teilweise bis 2 mm breiten Lenticellen der alten Luftwurzeln sind dagegen solche Verschlußstreifen äußerst selten.



Avicennia. Querschnitt durch einen Teil einer Lenticelle. Vergr. 140. i = Intercellularen.

Die Erdwurzeln, deren Betrachtung ich mich jetzt zuwende, weisen denselben Bau auf wie die unter der Erde befindlichen Teile der Luftwurzeln, mit dem einzigen Unterschiede, daß das Mark, in dem niemals verholzte Zellen wie bei den Luftwurzeln vorkommen, stark reduziert ist, sodaß, infolge der hierdurch ermöglichten Konzentration des Holzes nach der Mitte hin, eine größere Zugfestigkeit erreicht wird. Bei älteren Erdwurzeln findet sich genau dasselbe abnormale Dickenwachstum wie bei den Luftwurzeln, nur sind hier die einzelnen Holzringe entsprechend ihrer Funktion weniger stark entwickelt.

An den jüngsten Würzelchen wird die primäre Rinde, die schon denselben schwammigen Charakter zeigt wie bei den älteren, nach außen von einer aus kleinen, schmalen Zellen bestehenden Epidermis und einer darunter liegenden Hypodermis abgeschlossen, deren Zellen bedeutend weitlumiger als die der Epidermis und stark in radialer Richtung gestreckt sind. Schon frühzeitig entsteht in der an die Hypodermis anstoßenden Rindenschicht ein Phellogen, das Kork nach außen absondert. So tritt schon bei einem ganz jungen Stadium, auf einem Querschnitt von 1 mm Wurzeldurchmesser, unter der noch gut erhaltenen Hypodermis, von der die darüber liegende Epidermis schon

teilweise abgebröckelt ist, ein 2—3schichtiges Korkgewebe auf. Allmählich wird die Epidermis und späterhin auch die Hypodermis abgestoßen. Letztere hält sich jedoch ziemlich lange, sodaß sie selbst bei älteren Nebenwurzeln mit einem Querschnitt von 4 mm außerhalb des 5—6schichtigen Korkmantels noch vorhanden ist.

Besondere Hervorhebung verdient schließlich noch die auffällige Erscheinung, daß weder bei Luft- noch bei Erdwurzeln die primäre Rinde in der sonst für Wurzeln üblichen Weise abgeworfen wird, sondern dauernd erhalten bleibt, was in Anbetracht der Bedeutung dieser Gewebeschicht für die Durchlüftung des gesamten Wurzelsystems nur begreiflich erscheint.

Sonneratia.

Über die Wurzeln von *Sonneratia*, die schon ziemlich eingehend von Goebel[1]) und neuerdings von Westermaier[2]) beschrieben sind, werde ich mich kurz fassen, zumal mir auch nur wenig Material von dieser Spezies zur Verfügung stand.

Genau wie bei *Avicennia* wachsen aus den im Schlamm oder Wasser etwa horizontal verlaufenden Wurzeln negativ geotropisch gerichtete Luftwurzeln hervor. Diese sind jedoch größer und dicker als die Luftwurzeln von *Avicennia* und werden nach Schmidt[3]) etwa $^3/_4$ m, nach Goebel sogar 1,5 m lang. Ferner besitzen sie eine spindelförmige Gestalt, während die *Avicennia*-Luftwurzeln oben und unten ungefähr gleichen Durchmesser haben, wie es meine oben angeführten Messungsergebnisse beweisen. In dem oberen Teile der Luftwurzel ist der Zentralzylinder und insbesondere der Holzring bedeutend stärker entwickelt als in dem unteren Teile. Die primäre Rinde, die ebenso wie bei *Avicennia* als Durchlüftungsgewebe erhalten bleibt, ist oben und unten verschieden gestaltet. Im oberen Teile besteht sie, wie umstehender Querschnitt zeigt, aus parenchymatischen Zellen, zwischen denen große Intercellularen liegen. Versteifungen in den Zellen fehlen hier gänzlich. Doch scheinen einen Ersatz dafür die zahlreichen Trichoblasten, die von Goebel scheinbar nicht bemerkt sind, zu bilden. Sie haben sehr bizarre Formen und ragen in die Intercellularen hinein, sodaß letztere auf diese Weise ebenfalls, wenn auch in geringerem Maße als bei *Avicennia*, gegen ein Zusammengedrücktwerden geschützt sind. Der die ganze

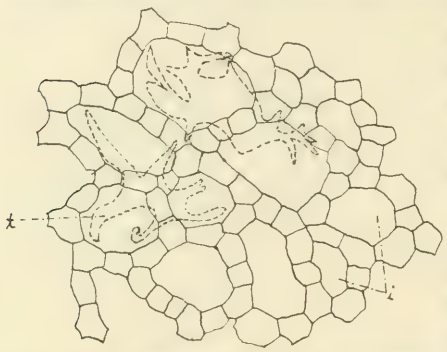
---

[1]) Goebel, Über die Luftwurzeln von Sonneratia. Ber. d. d. bot. Ges. IV. 1886, S. 249–255.

[2]) M. Westermaier, Zur Kenntnis der Pneumatophoren, Bot. Unters. im Anschluß an eine Tropenreise. I. Heft. Freiburg 1900.

[3]) Schmidt, l. c. Heft 7.

Luftwurzel umhüllende Korkmantel besteht nicht aus einer dicken, von zahlreichen Lentizellen durchbrochenen Schicht, wie wir sie bei *Avicennia* fanden, sondern aus wenigen, übereinander liegenden, dünnen Korkhäuten, die voneinander durch lockeres, nicht verkorktes, lufthaltiges Füllgewebe getrennt sind.



Sonneratia. Querschnitt durch den oberen Teil der Luftwurzelrinde. Vergr. 140. t = Trichoblasten. i = Intercellularen.

In dem unteren, im Erdboden befindlichen Teile der Luftwurzel gewinnt die Rinde eine viel bedeutendere Entwicklung als in dem oberen Teile und zwar durch das Auftreten sehr großer Intercellularen. Die meist dreiarmigen Zellen sind sehr stark in die Länge gezogen. Außer diesen verzerrten Zellen liegen auf dem Querschnitt kleinere rundliche Zellen mit ebenfalls nur schwachen Wänden, die stark longitudinal gestreckt sind. Außer diesen dünnwandigen, zylindrischen Zellen sollen nach Westermaier[1]) in dem unteren Teile der Pneumatophoren sowie in den Erdwurzeln dickwandige, longitudinal gestreckte Zellen, die schwach bogig oder sehr lang S-förmig gekrümmt sind, vorhanden sein. Sie sollen „als elastische Federn" wirken, indem sie infolge ihrer Gestalt und Elastizität der Rinde resp. den Intercellularräumen der Rinde ihre frühere Form wieder einnehmen helfen, wenn der Druck, der die Maschen verzerrt hat, aufhört oder nachläßt. Diese elastischen Federn spielen eine wichtige Rolle bei dem von Westermaier für die *Sonneratia*-Pneumatophoren konstruierten Atmungsmechanismus. Ich konnte jedoch trotz zahlreicher Quer- und Längsschnitte solche dynamische Zellen nicht entdecken und halte somit den Versuch Westermaiers, einen Atmungsmechanismus zu konstruieren, für verfehlt. Außerdem erscheint mir ein solches Unternehmen auch überflüssig, da man bei einem Erklärungsversuch für die Ermöglichung der Atemtätigkeit mit der Diffusion als wesentlichem Faktor völlig auskommt.

Die Erdwurzeln sind ebenso wie die unteren Teile der Luftwurzeln gebaut und werden, da ihnen jegliche Verdickungen fehlen, in dem schlammigen Boden zusammengepreßt werden müssen.

Die Holzanatomie weicht wesentlich von der bei *Avicennia* ab. Die Hauptmasse bilden die fast stets in radialen Reihen angeordneten Tüpfelgefäße, zwischen denen sehr wenig dünnwandige, ziemlich weit-

[1]) Westermaier, l. c., S. 14.

lumige Holzfasern liegen. Die einzelnen Gefäßreihen werden durch einreihige Markstrahlen getrennt. Das ganze Holz ist sehr substanzarm und leicht.

Nach Goebel[1]) treten an der Spitze der Luftwurzel eine große Anzahl Gefäße und Siebröhrengruppen in der für Wurzeln charakteristischen Anordnung auf. Ich kann jedoch nach meinen Beobachtungen dem nicht beistimmen. Im Gegenteil muß ich den Ausführungen Westermaiers[2]) Recht geben und den Luftwurzeln von *Sonneratia* mehr einen Stamm- als einen Wurzelcharakter zuschreiben, denn auf Querschnitten liegen die engsten Gefäße nicht in der für Wurzeln charakteristischen Weise der Peripherie, sondern, wie bei Stammquerschnitten, dem Zentrum zugekehrt. Auch befinden sich die Gefäßteile sämtlich innerhalb der Leptomgruppen und wechseln niemals mit ihnen ab; vielmehr liegen Xylem und Phloem oft auf denselben Radien.

Da das Material, das mir von dieser Spezies zur Verfügung stand, auch ein jüngeres Exemplar enthielt, dessen Luftwurzeln eben erst angelegt waren, so möchte ich es nicht unterlassen, auch kurz auf die Verhältnisse, wie sie bei solch jugendlichem Stadium liegen, einzugehen. Offensichtlich können die sehr jungen Atemwurzeln die Atemtätigkeit noch nicht erfüllen. Es tritt aber dafür der Stamm ein, der am unteren Teile mit jenem für *Sonneratia*-Luftwurzeln charakteristischen Korkgewebe überzogen ist, das eine ungehinderte Luftzirkulation gestattet. Auch die Rinde des Stammes weist in diesem Falle einen lockeren, schwammigen Bau auf, ähnlich dem des oberen Teiles der Luftwurzel, nur sind die Intercellularen nicht ganz so groß. In der ziemlich breiten Bastzone lagern zahlreiche, große Steinzellnester, wie sie sich auch in den an den Stamm ansetzenden oberen Teilen der Erdwurzeln finden, wohingegen sie in den unteren nicht vorhanden sind.

Carapa moluccensis.

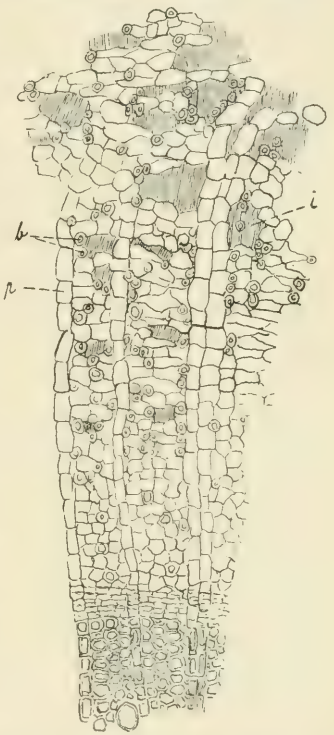
Nach den Angaben Schimpers[3]) werden wie bei *Avicennia* und *Sonneratia* ebenfalls bei *Carapa moluccensis* „spargelartige Luftwurzeln“, aber in geringerer Anzahl, erzeugt, die als Atmungsorgane dienen sollen. Diese Beobachtung, oder wenigstens die Deutung derselben, ist jedoch nicht ganz zutreffend. Vielmehr muß man der Ansicht, die Karsten[4]) vertritt, beipflichten und diese Gebilde als lokale Anschwellungen interpretieren, wie die nachstehende ausführliche anatomische Beschreibung zeigen wird.

---

[1]) Goebel, l. c., S. 250. [2]) Westermaier, l. c., S. 23.
[3]) Schimper l. c., S. 36. [4]) Karsten, l. c., S. 51.

Betrachten wir jedoch, bevor wir zur Behandlung jener Luftwurzeln übergehen, zunächst einmal den inneren Bau der Erdwurzeln, sowohl in jungen wie in älteren Stadien, so zeigen sich Verhältnisse, die nicht wesentlich vom normalen Wurzelbau abweichen. Die junge Wurzel besitzt meist einen tetrarchen Bau. Den äußeren Teil des Zentralzylinders nimmt ein Perizykel ein, das aus 2—3 Zellschichten besteht. Seine Zellen sind größer als die übrigen Zentralzylinderzellen und vorwiegend tangential gestreckt. Der Zentralzylinder wird durch eine Endodermis, deren Zellen in tangentialer Richtung zweimal länger gestreckt erscheinen als in radialer Richtung, von der primären Rinde getrennt. Diese besteht aus großen, dünnwandigen Parenchymzellen, die ziemlich regelmäßig radial angeordnet sind. Eine sehr starke Epidermis schließt die Rinde nach außen hin ab. Dieser primäre Zustand dauert jedoch nicht lange. Das Kambium des Zentralzylinders entwickelt eine lebhafte Tätigkeit, indem es sowohl nach innen zu viele Holzelemente absondert, als namentlich nach außen hin fortgesetzt parenchymatische Zellen entwickelt. Hand in Hand mit der Kambiumtätigkeit geht die Ausbildung eines Phellogens aus der äußersten Perizykelschicht. Dieses Phellogen scheidet nach innen zu nur sehr wenig Phelloderm ab, nach außen hin werden dagegen zahlreiche Peridermzellen gebildet, die bald verkorken, sodaß wir schon sehr frühzeitig einen Korkmantel von großer Dicke sehen. Die primäre Rinde wird somit vom Zentralzylinder abgedrängt, und da die Epidermis nicht gleichen Schritt mit der lebhaften Tätigkeit des Kambiums und der Korkbildung halten kann, so werden die Zellen der primären Rinde immer mehr zusammengedrückt, bis schließlich die Epidermis dem inneren Drucke nicht mehr widerstehen kann, sondern zerreißt und samt der primären Rinde abgeworfen wird. Diese Abstoßung erfolgt schon sehr früh. Bei jungen Wurzeln von 0,7 mm Durchmesser finden wir nur noch vereinzelte Stücke der primären Rinde an der stark entwickelten Korkschicht hängen. Bei älteren Wurzeln nimmt die Korkschicht im Verhältnis zum Gesamtdurchmesser nicht mehr in dem Maße zu wie bei jungen Stadien; sie erreicht nur eine Dicke von 10—12 Lagen. Dagegen wird der Holzzylinder, in dessen Innerem übrigens niemals ein Markstrang, weder an jungen noch an alten Wurzeln vorhanden ist, wesentlich verstärkt und nimmt im allgemeinen $^1/_3$ bis $^1/_2$ des ganzen Querschnittes ein. Das Holz setzt sich meist aus Holzfasern zusammen, in das nicht allzu zahlreiche Tüpfelgefäße eingelagert sind. Die Elemente des Holzprosenchyms sind zumeist sehr weitlumige, kurze Holzfasern, nur selten kommen englumigere, lange Holzfasern vor. Zahlreiche, meist 1—3reihige Markstrahlen durchsetzen das Holz. Sie bestehen aus in radialer Richtung gestreckten Parenchymzellen. Die sekundäre

Rinde ist an der an das Holz anstoßenden Seite sehr regelmäßig gebaut. In ihr setzen sich die im Holz vorhandenen radialen Markstrahlen in dem gleichen, regelmäßigen Bau fort und lassen sich leicht bis nahezu zur Hälfte des Rindengewebes verfolgen. Außer diesen Phloemstrahlen finden sich nicht ganz so starke, mehr rundliche Parenchymzellen und sehr viele stark verdickte Bastfasern, die eine beträchtliche Länge erreichen. Infolge des immer mehr zunehmenden Umfanges müssen die Zellen der äußeren Partien, wie dies auch Karsten[1]) angibt, sehr stark gespannt werden. Da das nur bis zu einem gewissen Grade möglich ist, so verlieren die Zellen allmählich ihren Zusammenhang und lassen Intercellularen zwischen sich entstehen. Bei weiterem tangentialem Zuge lösen sich dann die Zellen allmählich voneinander los, indem sie zunächst noch mit schmalen Zipfeln aneinander haften bleiben. Diese Zipfel schließen sich entweder als neue Zellen ab oder zerreißen, falls sie dem auf sie ausgeübten, starken Zuge nicht genügend nachgeben können. So sind also, wie schon gesagt, diese Verhältnisse von Karsten beschrieben und abgebildet. Nicht erwähnt sind jedoch die stark verdickten, englumigen Bastfasern, die in sehr großer Anzahl einzeln oder in Bündeln über die ganze sekundäre Rinde zerstreut liegen. Obwohl sie, wie durch verschiedene Reaktionen festgestellt wurde, weder verholzt noch verkorkt sind, so erreichen sie doch durch ihre fast bis zum Schwinden des Zellumens verdickten Wände eine solche Festigkeit, daß sie in der locker gefügten, jeder sonstigen Aussteifungen entbehrenden, sekundären Rinde hauptsächlich den Zusammenhang bedingen und wohl auch zur Offenhaltung der Intercellularen dienen.



Carapa. Querschnitt durch eine ältere Erdwurzel. Vergr. 140. b = Bastfasern; p = Phloemstrahlen; i = Intercellularen.

An diesen Erdwurzeln zeigen sich nun an sehr vielen Stellen höchst sonderbare Gebilde, die ihrer äußeren Erscheinung nach zwar an die Luftwurzeln von *Avicennia* und *Sonneratia* erinnern können, die wir oben kennen gelernt haben, die aber denselben durchaus nicht

[1]) Karsten, l. c., S. 52.

homolog sind. Denn Längs- und Querschnitte durch eins jener Sondergebilde lassen eine eigenartige Struktur erkennen, die Karsten[1]) anschaulich dargelegt hat. Der Holzkörper dieser Organe stellt sich nämlich nicht wie bei den Luftwurzeln von *Avicennia* und *Sonneratia* als ein Holzzylinder mit vertikaler Achse dar, sondern das organische Zentrum des Holzes liegt an der Basis des gesamten Organs und der Holzkörper selbst ist etwa in konzentrischen Ellipsoidschalen um dieses Zentrum geordnet. Die Markstrahlen bilden dementsprechend divergente Büschel. Dieser anatomische Befund läßt keinen Zweifel darüber obwalten, daß die Atmungsorgane mit Karsten als lokale Verdickungen der Erdwurzeln anzusprechen sind. Diese stellen nach Erreichung der Oberfläche des sauerstoffarmen Substrates ihr Wachstum nicht ein, sondern wachsen unausgesetzt weiter, sodaß sie sehr beträchtliche Höhe erreichen und als lange, hörnerartige Gebilde in die Luft ragen und aus ihr den Sauerstoff zur Durchlüftung des Wurzelsystems entnehmen. Die Rinde dieser Gebilde zeigt denselben Bau wie die der Erdwurzeln, nur sind die Intercellularen viel kleiner, sodaß dieses Gewebe einen ziemlich kompakten Eindruck macht. Die Korkschicht ist hier stärker entwickelt als bei den Erdwurzeln und erreicht 15 bis 20 übereinander liegende Zellschichten. Sie wird von großen Lenticellen durchbrochen, die entsprechend den Lenticellen bei *Avicennia* gebaut sind und ebenfalls teilweise von verkorkten Zwischenstreifen durchsetzt werden.

Carapa obovata.

Anatomisch ganz ähnlich, wenn auch in der äußeren Erscheinung durchaus verschieden, sind nun die Atmungsvorrichtungen des Wurzelsystems von *Carapa obovata*. Die Atmung wird nämlich hier nicht wie bei *Carapa moluccensis* durch einzelne, über die Bodenoberfläche hervorwachsende, lokale Anschwellungen besorgt, sondern die in dem zähen, sauerstoffarmen Schlamme in schlangenartigen Windungen dicht unter der Bodenoberfläche kriechenden Wurzeln werden durch einseitiges Dickenwachstum zu flachen, messerartigen Brettwurzeln. Diese ragen mit ihrer scharfen Kante aus dem Schlamme hervor und treten somit mit der Atmosphäre in Kontakt, wodurch die Luftzufuhr zu dem übrigen Wurzelsystem ermöglicht wird. An diesen Brettwurzeln entstehen zahlreiche nach unten und den Seiten gerichtete Nebenwurzeln, die in ihrem anatomischen Aufbau denen von *Carapa moluccensis* gleichen, sodaß eine weitere Beschreibung überflüssig ist. Wohl aber will ich noch etwas näher auf den anatomischen Bau der Brettwurzeln eingehen, um zu zeigen, daß ihr Aufbau demjenigen der merkwürdigen

[1]) Karsten, l. c., S. 51.

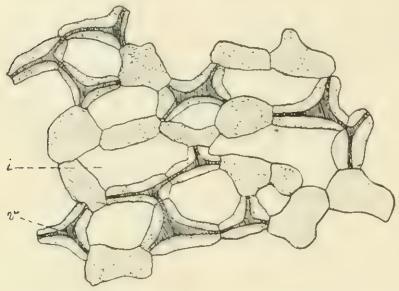
Atemhörner von *Carapa moluccensis* entspricht. Auch hier liegt das organische Zentrum unten, nur wenig von der Rinde entfernt. An den sehr scharf hervortretenden Linien der Jahresringe kann man wiederum den ungleichen Holzzuwachs deutlich erkennen. Dieser geht in der Weise vor sich, daß vom Zentrum aus nur in einer einzigen Richtung, nämlich nach oben, viel Holz gebildet wird, während nach sämtlichen übrigen Richtungen hin nur ein geringer Zuwachs stattfindet. Die Markstrahlen haben ebenfalls eine divergente Anordnung angenommen. Sie sind hier fast nur einreihig, während sie bei *Carapa moluccensis* 1—3reihig waren. Die Holzfasern, die auch hier die Hauptmasse des Holzkörpers bilden, sind länger und englumiger als bei der vorher betrachteten Spezies. Der Bau der Rinde weicht insofern etwas von dem bei *Carapa moluccensis* ab, als die Bastfasern nicht einzeln zerstreut liegen, sondern, zwischen den Markstrahlen zu Bündeln geordnet, mit Schichten von Parenchymzellen abwechseln. Diese regelmäßige Anordnung läßt sich jedoch nur auf der inneren Rindenpartie erkennen, namentlich soweit man die Markstrahlen verfolgen kann. Weiter nach außen sind die Bastfasergruppen mehr zerstreut zwischen die regellos durcheinander liegenden Parenchymzellen. Die Intercellularen sind hier lange nicht so groß wie bei *Carapa moluccensis*, was offenbar mit dem Umstande zusammenhängt, daß der größte Teil der Wurzel mit der Luft in direkter Berührung steht, sodaß das Intercellularsystem weniger entwickelt zu sein braucht. Die sekundäre Rinde dieser Brettwurzeln wird von einem 12—15 Schichten starken Korkgewebe bedeckt. Dieses ist an beiden Seiten des über die Bodenoberfläche hervorragenden Teiles der Brettwurzel von ebenso wie bei *Carapa moluccensis* gebauten Lenticellen durchbrochen, die dem Intercellularsystem als Pforten dienen.

Bruguiera.

Bei den verschiedenen in der asiatischen Mangrove-Vegetation vorkommenden *Bruguiera*-Arten wird die Atmung überall in der gleichen, sehr eigenartigen Weise bewirkt. Die horizontal unter der Bodenoberfläche hinkriechenden Wurzeln wachsen stellenweise unter scharfem Winkel nach oben über den Schlamm hervor, biegen dann unter ebenfalls scharfer Knickung wieder nach unten und wachsen im Boden wieder horizontal weiter. An diesen knieartigen Gebilden, die wir unten noch näher betrachten werden, entstehen dann zahlreiche, große Lenticellen, die einen lebhaften Gasaustausch ermöglichen. Bei jungen Pflanzen, denen noch jene knieartigen Luftwurzeln fehlen, wird die Atmung durch am Hypokotyl entstehende Lenticellen vermittelt. Betrachten wir nun die einzelnen *Bruguiera*-Arten genauer.

Bruguiera eriopetala.

Die Atmung wird bei jungen Pflanzen durch einen am Übergang vom Hypokotyl zum Epikotyl scharf hervortretenden Lenticellenring ermöglicht. Ein Querschnitt von 18 mm Durchmesser, in halber Höhe durch das Hypokotyl geführt, zeigt ein 9 mm starkes Mark, das aus dünnwandigen, großen, parenchymatischen Zellen besteht und ziemlich viel Stärkekörner enthält. Die daran anschließende Holzzone ist nur schwach entwickelt und erreicht nur eine Breite von 0,8 mm. In dem stärker ausgebildeten Bastringe fallen am äußeren Rande kleine Nester von Steinzellen auf. Diese stoßen unmittelbar an eine sehr scharf hervortretende, zweischichtige Stärkescheide, die sich durch Einlagerung von außerordentlich großen Stärkekörnern auszeichnet. Die Rinde nun besitzt einen ziemlich lockeren Bau. In ihren peripherischen Teilen liegen kleinere Intercellularen, um dort die durch die Lenticellen eintretende Atemluft aufzunehmen und sie nach innen an allmählich größer werdende Intercellularräume abzugeben. In den innersten Teilen der Rinde haben die Lufträume dermaßen an Ausdehnung zugenommen, daß die sie umgebenden Rindenzellen stark gedehnt und verzerrt sind. Verdickungsleisten, ganz ähnlich gestaltet wie bei *Avicennia*, sorgen für ein beständiges Klaffen dieser weiten Luftgänge. Die äußeren Zellen behalten dagegen ihre rundliche Form und führen noch viel Stärkekörner und Kristalldrusen von oxalsaurem Kalk. Die Epidermis zeigt auffallend stark verdickte Wände und an der Oberfläche eine starke Kutikula.

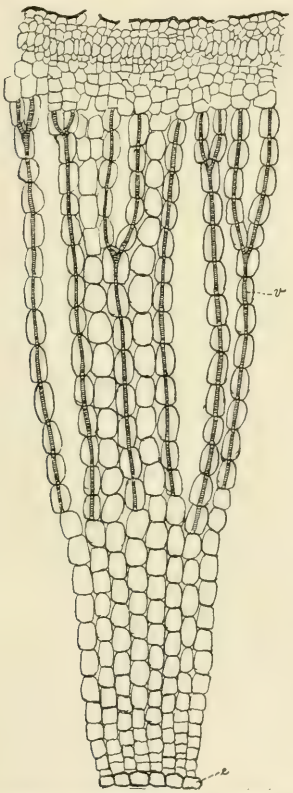


Bruguiera eriopetala. Querschnitt durch die innere Partie der Rinde des Hypokotyls. i = Intercellularen; v = Verdickungen.

Außer dem am Übergang vom Hypokotyl zum Epikotyl vorhandenen Lenticellenring treten auch am Epikotyl zerstreut liegende, einzelne Lenticellen auf. An einigen Exemplaren war der Lenticellenring am Hypokotyl nur unvollkommen ausgebildet und auch am Epikotyl waren keine zerstreut liegenden Lenticellen zu bemerken, sondern ein starker, gut ausgebildeter Lenticellenring. Dies eigenartige Verhalten ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß das ganze Hypokotyl von dem Substrat bedeckt war, sodaß der angelegte Lenticellenring nicht in Funktion treten konnte, wofür auch der Umstand sprach, daß die Lenticellen des Ringes am Hypokotyl durch eine starke Korkschicht verschlossen waren, während die funktionierenden Lenticellen eine solche Verschlußschicht nicht zeigten, sondern frei mit

der äußeren Atmosphäre kommunizierten. Die Bildung der Lenticellen nun erfolgt durch ein Phellogen, das in der unmittelbar an die Epidermis anstoßenden Rindenschicht entsteht. Dieses Phellogen scheidet nach innen zu nur in geringem Maße Phelloderm ab, dagegen wird nach außen hin ein sehr lockeres, aus runden, dünnwandigen Zellen bestehendes Füllgewebe gebildet. Letzteres wird von bisweilen mehreren schmalen Korkstreifen durchsetzt, die der lockeren, pulverigen Masse einen Halt geben.

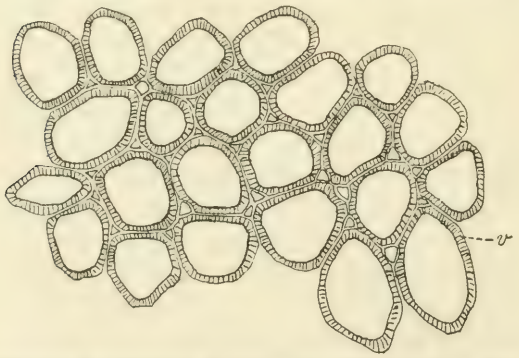
Am Epikotyl besitzt die Rinde entsprechend ihrer Funktion ebenfalls einen schwammigen Bau. Sie besteht aus ziemlich gleichmäßigen, polygonalen Zellen, die innen von großen und nach außen zu kleiner werdenden Intercellularen durchsetzt sind. Die Zellen tragen keine Verdickungsleisten wie beim Hypokotyl, sondern führen, namentlich in der äußeren Rindenpartie, zum großen Teil Stärke und Kristalldrusen von oxalsaurem Kalk. Dieses Rindengewebe wird nach außen von einer 5—8 Lagen starken Korkschicht geschützt.



Bruguiera eriopetala. Querschnitt durch die Rinde einer jungen Wurzel. Vergr 140. Intercellularen u. Verdickungsringe in Bildung begriffen. v = Verdickungsringe; e = Endodermis.

Wenden wir uns nunmehr der Wurzelanatomie zu und betrachten wir zunächst wieder eine junge Wurzel. Auf einem Querschnitt dicht an der Spitze haben wir von innen nach außen ein weitlumiges, mit kleinen Intercellularen versehenes Mark, einen Ring kleinzelligeren Gewebes, in dem wir die Vasal- und Kribralprimanen in der für Wurzeln typischen Weise angeordnet finden, eine sehr scharf hervortretende Endodermis und endlich die primäre Rinde, die sich aus runden, nach außen hin weitlumiger werdenden, in regelmäßig radialen Reihen angeordneten Zellen zusammensetzt. Nennenswerte Intercellularen kommen in dieser noch jungen Rinde so gut wie nicht vor. Schließlich verdient noch die unter der Epidermis liegende, bisweilen mehrschichtige Hypodermis erwähnt zu werden. Letztere und mit ihr die Epidermis werden bald durch die Tätigkeit eines darunter entstehenden Phellogens abgeworfen. Die primäre Rinde indessen bleibt ganz ebenso wie bei *Avicennia* und *Sonneratia* als Durchlüftungsgewebe erhalten. Um diesen Zweck zu erfüllen, muß

sie jedoch im Laufe der weiteren Entwicklung einen anderen Aufbau als den oben geschilderten erhalten. Und so sehen wir denn an einem etwas weiter von der Spitze entfernt gelegten Querschnitt, daß die primäre Rinde einen ganz anderen Charakter annimmt. Die Zellen weichen infolge der tangentialen Dehnung auseinander, aber nur derart, daß die radialen Reihen erhalten bleiben, ohne Unterbrechungen aufzuweisen, und zwar vollzieht sich die Loslösung in tangentialer Richtung von den benachbarten Zellen sehr schnell unter gänzlicher Auflösung der radialen Mittellamellen. Wir finden infolgedessen nicht etwa wie bei *Carapa* langgestreckte Zipfel, mit denen die Zellen seitlich aneinander hängen, sondern die Zellen behalten mehr ihre rundliche oder radialgestreckte Form. So entstehen zwischen den im Zusammenhang bleibenden, radialen Zellreihen radiale Intercellularen, die sehr bald größere Ausdehnung bekommen und bei älteren Wurzeln fast die ganze Rinde in radialer Richtung durchlaufen. Man könnte durch das Bild eines solchen Querschnittes etwa an ein Rad mit seinen Speichen erinnert werden. Denn es bleiben nur einige geschlossene Zellschichten, die aus nicht so radial angeordneten, parenchymatischen Zellen bestehen, nach innen zu im Anschluß an die Endodermis und nach außen hin an das Korkgewebe anschließend, erhalten, wie etwa der Kranz und die Nabe, wenn wir bei dem Bilde bleiben wollen. Hand in Hand, als unmittelbare Folge, geht mit der Ausbildung der Intercellularen in den Zellen selbst eine Veränderung vor sich. Es werden ringförmige, in den Innenraum vorspringende, verholzte Verdickungsleisten in den einzelnen Zellen angelegt, und zwar erfolgt die Ausbildung der Ringe in den einzelnen Zellreihen von außen nach innen. Diese Verdickungsringe durchlaufen die Zellen immer nur in radialer Richtung und stoßen genau aufeinander, sodaß wir auf Querschnitten, wie umstehender zeigt, die Gestalt von bandförmigen, in radialer Richtung bis zur Peripherie verlaufenden Verdickungen erhalten. Auf radialen Längsschnitten durch eine solche mit Verdickungsringen versehene Stelle zeigt sich (s. Figur) ein zierliches, zusammenhängendes Netzwerk aus lauter einzelnen, ringförmigen Zellen, die an den Stellen, wo sie zusammenstoßen, kleine



Bruguiera eriopetala. Radialer Längsschnitt durch eine mit Verdickungsringen versehene Stelle. Vergr. 270. v = ins Zellumen vorspringende Verdickungsringe.

rundliche Intercellularen entstehen lassen. Solche Verdickungen werden jedoch nicht in jeder radialen Zellreihe angelegt, sondern nur in den an die großen Intercellularen anstoßenden. Da nun bei alten Wurzeln sehr viele Intercellularen vorhanden sind, so erhalten wir meist Bilder, auf denen eine unverdickte Reihe von zwei verdickten, an Intercellularen anstoßenden eingeschlossen ist. Oft sehen wir, daß die Zellreihen nach außen hin dichotomisch geteilt sind, sodaß zwischen die großen Intercellularen von außen her noch kleine eingeschoben sind.

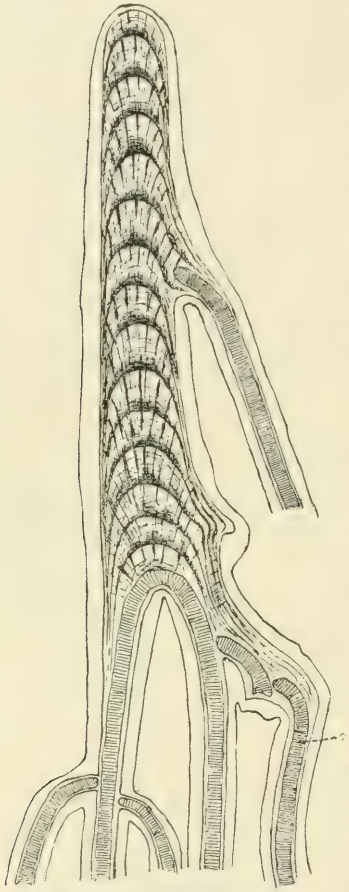
Bei älteren Wurzeln finden wir ungefähr dieselben Verhältnisse. Nur ist das Mark noch weitlumiger und trägt größere Intercellularen. Der Holzring erreicht eine ziemlich beträchtliche Dicke. Er wird von breiten, 3—5reihigen Markstrahlen durchzogen, deren Zellen in radialer Richtung gestreckt sind. Das Holz besteht meist aus Holzfasern. Die Gefäße zeigen leiterförmige Durchbrechungen und sind nicht sehr zahlreich. Die Endodermis tritt auch hier noch scharf hervor. Die Rinde wird nach außen hin von einer starken, aus 10—12 Lagen bestehenden Korkschicht abgeschlossen.

Bruguiera gymnorrhiza.

Die Wurzeln sind ähnlich denjenigen der vorher behandelten Spezies gebaut. Wieder haben wir ein weites parenchymatisches Mark von einem Holzring umgeben, der von zahlreichen primären und sekundären Markstrahlen durchsetzt ist. Die Hauptmasse des Holzes bilden wiederum die Holzfasern, zwischen denen nicht allzu zahlreiche Gefäße mit ebenfalls leiterförmigen Durchbrechungen liegen. Im Bast finden wir Steinzellnester, die bei *Bruguiera eriopetala* nicht vorhanden sind. Die an die Endodermis anstoßende Rinde und der umhüllende Korkmantel zeigen kein abweichendes Verhalten.

Wie schon kurz erwähnt, wachsen die flach unter dem Boden hinkriechenden Erdwurzeln ab und zu negativ geotropisch nach oben aus dem Boden heraus, ändern dann ihre Wachstumsrichtung in eine positiv geotropische und biegen in scharfem Winkel wieder nach unten, um in ihrer alten horizontalen Lage im Boden weiter zu wachsen. An der Stelle, wo die Rückbiegung nach unten erfolgt, setzt ein einseitiges, nach oben gerichtetes Dickenwachstum ein. Dieses hält ziemlich lange an, sodaß diese Gebilde eine beträchtliche Höhe erreichen können. Es entspringen dann sowohl an dem aufsteigenden und absteigenden Teile dieses über den Boden hervorgewachsenen Wurzelstückes als auch an dem durch einseitiges Dickenwachstum nach oben entstandenen Höcker nach allen Seiten hin Nebenwurzeln, sodaß das ganze Gebilde die Gestalt eines unförmigen Knäuels bekommt. An diesem läßt sich die Hauptwurzel, an der der Knäuel entstand, nicht ohne weiteres feststellen, da die entstandenen Seiten-

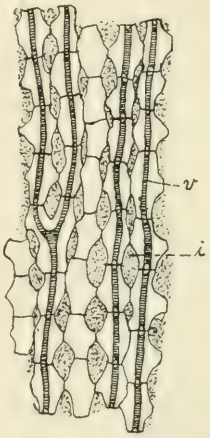
wurzeln oftmals größere Dicke annehmen als die Hauptwurzel. Der Knäuel wird dadurch noch komplizierter, daß manche Wurzeln infolge Beschädigung der Spitze ihre Richtung aufgeben und dafür mehrere Seitenwurzeln anlegen. Führt man jedoch einen medianen Längsschnitt durch ein solches Gebilde, wie beistehende Figur zeigt, so läßt sich der Aufbau leicht erkennen. An dem Verlauf des Markes kann man ohne Mühe die Hauptwurzel feststellen. Die Seitenwurzeln setzen nämlich an die Hauptwurzel immer so an, daß zwischen ihrem Mark und dem der Hauptwurzel stets noch eine schmale Holzzone bleibt. Es zeigt sich nun hier, daß der Knäuel nicht durch eine Verwachsung des auf- und absteigenden Teiles der Hauptwurzel entstanden ist, wie man bisher annahm, sondern lediglich durch lokales Dickenwachstum des oberen Teiles der Umbiegungsstelle. Denn, würde die bisher herrschende Ansicht den tatsächlichen Verhältnissen entsprechen, so müßte ein Längsschnitt wohl noch bis zu einem gewissen Grade die beiden Äste erkennen lassen, deren Verschmelzung zur Bildung dieser eigenartigen Organe geführt haben soll. Dies ist jedoch nicht der Fall, sondern es treten, wie die Figur zeigt, auf dem Längsschnitt ganz ähnlich wie bei *Carapa*-Luftwurzeln konzentrische, ellipsenförmige Jahresringe und divergente Markstrahlen in Erscheinung, woraus man wohl mit Sicherheit auf eine Entstehung durch lokales, einseitig nach oben gerichtetes Dickenwachstum schließen kann. Die den Knäuel umgebende Rinde erreicht eine beträchtliche Dicke und zeigt einen ganz anderen Aufbau als bei den Erdwurzeln. Die Endodermis und mit ihr die primäre Rinde ist verschwunden. Das nach innen Holz bildende Kambium sondert nach außen zahlreiche parenchymatische Rindenzellen ab. Diese lassen nur kleinere Intercellularen zwischen sich und tragen niemals ringförmige Verdickungen. Die Markstrahlen setzen sich in der Rinde in der gleichen Anordnung wie im Holzkörper fort und lassen sich bis ungefähr $^1/_3$ durch das Rinden-



Bruguiera gymnorrhiza. Medianer Längsschnitt durch Luftwurzel. Natürliche Größe. m = Mark.

gewebe verfolgen, in dem zahlreiche, große Nester von Steinzellen liegen. Zum Aufbau der Rinde trägt auch, allerdings nur in geringem Maße, das Phellogen bei, indem es nach innen einige Lagen von Phelloderm erzeugt. Nach außen jedoch versorgt das Phellogen die Rinde mit einer 15–20 Lagen dicken, schützenden Korkhülle. Sehr große Lenticellen durchbrechen letztere und lassen in ihrem Aufbau eine Periodizität ihrer Entstehung erkennen, insofern nämlich, als sie teils von verkorkten Zwischenstreifen durchsetzt sind, teils solcher entbehren.

Im Jugendstadium wird ebenso wie bei *Bruguiera eriopetala* am oberen Ende des Hypokotyls ein Lenticellenring zur Vermittlung der Atmung angelegt. Das Hypokotyl weicht jedoch etwas von dem der vorigen Art ab. Bei einem Querschnitt von 21 mm haben wir ein 11 mm breites parenchymatisches Markgewebe, das mit weiten, fast zellgroßen Intercellularen durchsetzt ist. Der Holzring ist nur sehr schwach. Im Bast liegen Nester von Steinzellen, die an eine einschichtige, nicht so deutlich hervortretende Stärkescheide anstoßen. Die Rinde, das für die Durchlüftung wichtigste Gewebe, zeigt ähnlich wie in den Wurzeln einen radialen Aufbau. Es werden jedoch niemals so große, in radialer Richtung verlaufende Intercellularen ausgebildet, sondern die einzelnen Zellen bleiben an den Ansatzstellen durch seitliche Fortsätze miteinander im Zusammenhang, sodaß kreuzförmige Zellen entstehen. In diesen finden sich ebenfalls ringförmige Versteifungen, die auf dem Querschnitt, wie beistehender zeigt, zusammenhängende Radien bilden. An diese radial angeordnete, mit Verdickungsringen versehene Rindenpartie schließt sich nach außen hin eine in diesem Falle viel breitere, nämlich 15—20 Lagen dicke Kranzzone von unverdickten, regellos gelagerten Zellen. Endlich wird das Hypokotyl von einer 5—8 schichtigen Korkhülle bedeckt.



Bruguiera gymnorrhiza. Querschnitt durch die Rinde des Hypokotyls. v = Verdickungsringe; i = Intercellularen. Vergr. 140.

Bruguiera caryophylloides.

Die Erdwurzeln dieser Spezies gleichen genau denen von *Bruguiera gymnorrhiza*. Dagegen sollen die Atmungswurzeln von den anderen *Bruguiera*-Arten hinsichtlich ihres Korkmantels abweichen, was ich allerdings infolge Mangels an Material nicht nachprüfen konnte.

Nach Karsten[1]) und Schimper[2]) sind die Atmungswurzeln nicht mit einer von Lenticellen durchbrochenen, dicken Korkschicht, sondern ähnlich wie bei *Sonneratia* von wenigen, übereinander liegenden, dünnen Korkhäuten bedeckt, die durch lockeres, nicht verkorktes Luftgewebe voneinander getrennt sind, sodaß eine Luftzirkulation sehr leicht möglich ist.

Im Jugendstadium wird die Atmung wiederum durch das Hypokotyl besorgt. Zum Unterschied von den beiden bisher behandelten *Bruguiera*-Arten wird jedoch kein Lenticellenring angelegt, sondern am ganzen Hypokotyl treten zerstreut Lenticellen auf. Das Hypokotyl hat bei einem Querschnitt von 8 mm einen Zentralzylinder von 4 mm, dessen Hauptteil von einem mit zahlreichen Stärkekörnern angefüllten, großzelligen Mark eingenommen wird. Der Holzring erreicht die Stärke von 0,5 mm. Im Bast treten Nester von Steinzellen auf. Die Rinde besteht aus parenchymatischen, nicht mit Verdickungsleisten versehenen Zellen, zwischen denen nach innen zu ziemlich große Intercellularen liegen, während weiter nach außen hin die Intercellularen kleiner werden und dreieckige Gestalt annehmen. Äußerlich wird die Rinde von einer stark kutinisierten Epidermis umgeben, die von Lenticellen durchbrochen wird. Zur Bildung derselben entsteht nicht direkt unter der Epidermis, sondern in der fünften oder sechsten Rindenschicht ein Folgemeristem, das besonders nach außen hin zahlreiche, radiale Zellreihen erzeugt. Hierdurch werden die Epidermis und die äußersten Schichten der primären Rinde, die nur geringe Intercellularen zeigen, abgestoßen, sodaß die Lenticelle besser funktionieren kann, da ja die eintretende Atemluft nicht mehr soviel kleine Intercellularen zu passieren hat, als wenn die äußeren Schichten noch vorhanden wären.

Bruguiera parviflora.

Auch bei den Wurzeln von *Bruguiera parviflora* ist nichts von den anderen *Bruguiera*-Arten abweichendes zu bemerken. Nur im Hypokotyl zeigen sich einige unwesentliche Unterschiede, dadurch bedingt, daß Holz und Bastring schwächer entwickelt sind und in letzterem keine Steinzellnester auftreten. Ferner ist auch die Stärkescheide weniger deutlich. Die Lenticellen liegen wie bei *Bruguiera caryophylloides* über das ganze Hypokotyl zerstreut. Im Gegensatz zu dieser Spezies entstehen sie jedoch nicht in einer tieferen Schicht der Rinde, die übrigens denselben Bau wie die der vorher behandelten Art besitzt, sondern unmittelbar unter der stark kutinisierten Epidermis.

[1]) Karsten, l. c., S. 48. [2]) Schimper, l. c., S. 39

Rhizophora.

Wesentlich anders als in den bisher betrachteten Fällen ist nun die Art und Weise, in welcher die *Rhizophora*-Arten ihr Wurzelsystem mit Atemluft versorgen. Es sind hier Gebilde vorhanden, die außer der sekundären Funktion als Atmungsorgane zu gleicher Zeit noch die primäre und wichtigere Aufgabe zu erfüllen haben, die Standsicherheit der Pflanze zu erhöhen, ihr als Stützwurzeln zu dienen. Diese Organe entspringen in großer Anzahl unter einem rechten Winkel am Stamme und biegen nach Erreichung einer gewissen Länge, wohl zum Teil infolge ihres eigenen Gewichtes in weitem Bogen abwärts, um nach wiederholter Verzweigung schließlich den Boden zu erreichen. Die Ursache dieses öfteren Verzweigens beruht, wie man schon vermutete, und wie jetzt neuerdings von W. Docters van Leeuwen[1]) festgestellt worden ist, auf einer Verletzung der Spitze. Nach Leeuwens Beobachtungen wird die Spitze von einer kleinen Scolytide angefressen und stirbt ab. Ungefähr 1 cm oberhalb der getöteten Stelle entstehen dann mehrere Nebenwurzeln. Infolge dieser wiederholten Verzweigung nehmen die Stützwurzeln eines Baumes einen ziemlich umfangreichen Komplex ein und befestigen ihn somit in dem schlammigen Boden. Außer diesen Stammstützwurzeln wachsen von den Ästen schwächere, tauartige Zweigstützwurzeln herab, die, in den Boden gelangt, zahlreiche Seitenwurzeln erzeugen. Das ganze Wurzelsystem wirkt somit als eine überaus feste Verankerungsvorrichtung, wodurch die *Rhizophora*-Arten befähigt werden, weiter ins Meer hineinzudringen als die anderen Mangrovepflanzen. Die aus dem Wasser oder Schlamme hervorragenden Teile der Stützwurzeln tragen zahlreiche und große Lenticellen, die den Gasaustausch zwischen der Atmosphäre und den unterirdischen Wurzeln vermitteln. Von der anatomischen Betrachtung dieser Wurzeln möchte ich im folgenden nur das Wichtigste hervorheben, da sie schon sehr eingehend von Warming[2]) und Karsten[3]) beschrieben und abgebildet sind.

Hiernach besitzen die oberirdischen Stützwurzeln im Innern einen ziemlich starken Zentralzylinder, der über die Hälfte des Gesamtdurchmessers einnimmt, und zwar infolge einer umfangreichen Ausbildung des Holzringes. Letzterer besteht zumeist aus Holzfasern, in das die mit leiterförmiger Perforation versehenen Tüpfelgefäße eingelagert sind. Breite Markstrahlen durchsetzen in radialer Anordnung

[1]) W. Docters van Leeuwen, Über die Ursache der wiederholten Verzweigung der Stützwurzeln von Rhizophora. Ber. d. D. bot. Ges. XXIX. 1911. S. 476.

[2]) Eug. Warming, Tropische Fragmente II. Rhizophora Mangle L., Englers botan. Jahrb. IV. 1883. S. 519 ff.

[3]) Karsten, l. c., S. 59.

das Holz. Die primäre Rinde, die auch bei dieser Mangroveart wieder als Durchlüftungsgewebe erhalten bleibt, besteht aus ziemlich gleichartigen, parenchymatischen Zellen, zwischen denen zahlreiche, meist in vertikaler Richtung verlaufende Intercellularen liegen. In diese Luftgänge ragen viele, verholzte, fast bis zum Schwinden des Zellumens verdickte Trichoblaste. Sie haben meist Hförmige Gestalt und kommen mehr oder weniger zahlreich in fast allen Teilen der Pflanze vor. Sie schützen die Intercellularräume gegen ein Zusammengedrücktwerden und halten sie somit für die Luftzirkulation offen. Die Rinde wird von einer starken Korkschicht bedeckt, die, wie schon erwähnt, von Lenticellen durchbrochen ist.

Bei den unter Wasser befindlichen Teilen der Stützwurzeln, die im allgemeinen eine größere Dicke besitzen als die oberirdischen, ist der Zentralzylinder bedeutend schwächer entwickelt. Sein Durchmesser verhält sich zum Gesamtdurchmesser wie 1 : 3. Die Rinde zeigt hier ein ganz anderes Gepräge. Die Intercellularen sind bedeutend größer als bei den oberirdischen Teilen. Die Zellen sind meist radial gestreckt und teilweise mit verholzten Verdickungsleisten versehen, die entweder eine ringförmige Ausbildung oder eine ähnliche Gestalt wie bei *Avicennia* aufweisen. Außerdem liegen zerstreut kleinere, im Querschnitt rundliche Zellen, die in axialer Richtung sehr lang gestreckt sind und niemals Verdickungsleisten tragen. Die Rinde besitzt infolge dieser Struktur eine große Widerstandskraft.

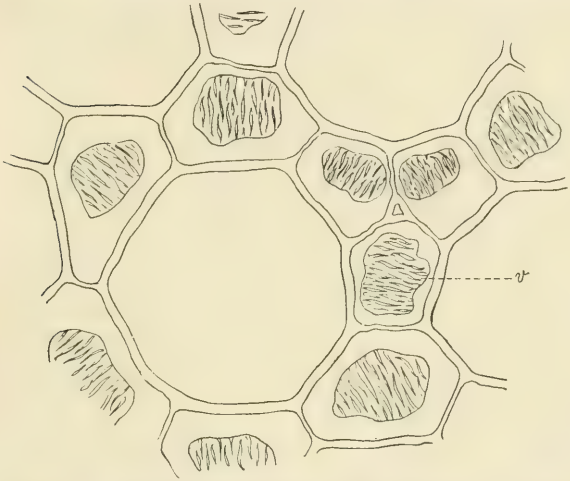
Die von den Stützwurzeln im Boden nach allen Seiten hin entspringenden größeren und kleineren Nebenwurzeln zeigen denselben Aufbau wie die unter Wasser befindlichen Teile der Stützwurzeln.

Acanthus ilicifolius.

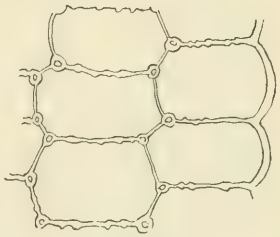
Bei *Acanthus ilicifolius* finden wir ein reichverzweigtes System von bogenartig gewölbten Stützwurzeln, das sehr an die Verhältnisse bei *Rhizophora* erinnert, aber in viel kleinerem Maßstabe ausgebildet ist. Wie bei *Rhizophora* weichen auch hier die in der Luft befindlichen Teile von den im Boden verborgenen ab. Schon mit unbewaffnetem Auge erkennt man einen deutlichen Unterschied. Die oberirdischen Teile sind mit zahlreichen Lenticellen versehen und tragen keine Nebenwürzelchen, während an den unterirdischen Teilen die Lenticellen verschwinden und nach allen Seiten hin verlaufende, reich verzweigte Seitenwurzeln auftreten. Bei mikroskopisch-anatomischer Betrachtung finden wir ebenfalls einen merklichen Unterschied zwischen den in verschiedenen Medien befindlichen Teilen.

Soweit sie dem Bereiche der Atmosphäre angehören, zeigen die Wurzeln in ihrem Zentrum ein weitlumiges Mark, das durch kleine Intercellularen unterbrochen ist. Sehr stark ist der Holzring entwickelt,

dessen hauptsächlichste Elemente Holzfasern sind. Holzparenchym ist nur wenig vorhanden. Die ebenfalls nur in geringer Anzahl vorkommenden Tracheen sind Tüpfelgefäße mit einfachen Durchbrechungen. Durchsetzt wird der Holzring von schmalen, 1—3 reihigen Markstrahlen. In der Bastzone treten, zerstreut liegend, viele Bastfasern hervor, die ziemlich langgestreckt, an beiden Enden zugespitzt und fast bis zum



Acanthus. Querschnitt durch die Rinde des oberen Teiles der Stützwurzel. v = plattenförmige Wandverdickung.



Acanthus.
Radialer Längsschnitt durch einige Rindenzellen.

Schwinden des Zellumens verdickt sind. Der mikrochemische Nachweis läßt an diesen Verdickungen eine schwache Verholzung erkennen. Wenn wir nun die Größenverhältnisse der einzelnen Zonen für einen bestimmten Fall auch zahlenmäßig angeben, um den Unterschied zwischen den in der Luft befindlichen und den im Boden verborgenen Teilen der Stützwurzeln hervorzuheben, so finden wir bei einem Gesamtdurchmesser von 10,8 mm einen Zentralzylinder von 5,5 mm, wovon der Holzring 1,3 mm beträgt. Die Rinde setzt sich aus ziemlich regelmäßig gebauten, 5—6eckigen Zellen zusammen, zwischen denen sehr beträchtliche Lufträume liegen. In den Rindenzellen finden sich nun nicht jene verholzten Verdickungsleisten, wie wir sie bei fast allen anderen Mangrovepflanzen fanden, sondern der Offenhaltung der Intercellularräume wird in ganz eigenartiger, komplizierter Weise Rechnung getragen. Es sind zunächst die an die Intercellularen anstoßenden Zellwände, wie man auf dem beigefügten Quer- und Längsschnitt sieht, stark verdickt. Sodann zeigen stets die zwei benachbarte Zellen trennenden, radialen Wände eigentümliche, plattenförmige Verdickungen, die von langgestreckten Tüpfeln durchbrochen sind, zweifellos, um den sonst durch diese Verdickungen erschwerten Stoffwechsel zu erleichtern. An den Tangentialwänden dagegen finden

wir nur vereinzelt solche Verdickungsplatten, die dann aber niemals die Stärke der radialen Verdickungen erreichen. Die Rinde ist also in sehr zweckmäßiger Weise namentlich gegen einen radialen äußeren Druck gefestigt. An den Stellen, wo drei oder mehr Zellen aneinander stoßen, werden kleinere Intercellularen gebildet. Die umschließenden Zellwände sind hier ebenfalls stark verdickt. Die 12—15 Schichten dicke Korklage gestattet mittels zahlreicher Lenticellen, deren Gewebe mit vielen, großen Stärkekörnern erfüllt ist, der Atemluft den Durchtritt.

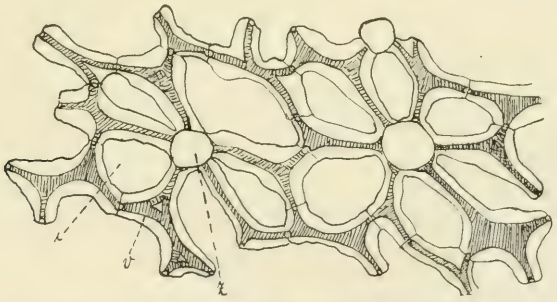
Die in den Boden eingedrungenen Wurzeln zeigen im großen und ganzen denselben Aufbau wie die in der Luft befindlichen Teile, aber die Dimensionsverhältnisse der einzelnen Gewebearten sind andere. Wir haben hier bei einem Querschnitt von 10 mm einen Zentralzylinder von nur 2,8 mm und einen Holzring von 0,9 mm Durchmesser. Es sind also bei ungefähr gleichem Gesamtdurchmesser der Zentralzylinder und besonders der Holzring kaum halb so stark entwickelt wie bei den oberirdischen Stützwurzeln. Die Rindenzellen zeigen nicht so gleichmäßigen Bau, sondern sind in die Länge gezogen, sodaß die Intercellularen viel größeres Volumen erreichen. Die Korkschicht, deren Zellen viel weitlumiger und dünnwandiger sind als bei den oberen Teilen, ist schwächer entwickelt und besteht nur aus 5 bis 8 Lagen.

Bei einer vergleichenden Betrachtung verschiedenalteriger Nebenwurzeln, deren Aufbau mit dem der unterirdischen Stützwurzeln übereinstimmt, konnte eine auffallende Wahrnehmung bezüglich der Erhaltungsdauer von Hypodermis und Epidermis gemacht werden. Trotzdem unter der Hypodermis bei etwas älteren Stadien ein Korkkambium in Tätigkeit tritt, bleiben Epidermis und namentlich die unter ihr liegende, großzelligere Hypodermis auffallend lange erhalten. Selbst bei Stadien, die schon soweit in der Entwicklung vorgeschritten sind, daß sie eine aus 5—6 Lagen bestehende Korkschicht aufweisen, sind Epidermis und Hypodermis noch immer erhalten.

Ceriops Candolleana.

Schon bei Betrachtung von *Rhizophora* und *Acanthus* konnten wir eine Vereinfachung in der Art und Weise, wie diese Pflanzen ihr Wurzelsystem mit Luft versorgen, den übrigen Mangrove-Arten gegenüber konstatieren. Denn die beiden letztbehandelten Arten bilden nicht mehr wie jene besondere, nur im Dienste der Luftaufnahme stehende Gebilde aus, sondern ziehen schon vorhandene Organe anderer Bestimmung zur Erledigung dieser neuen Aufgabe mit heran. In einem derartigen Bestreben hat es nun offenbar *Ceriops* und das in unmittelbarem Anschluß hieran zu behandelnde *Aegiceras* am weitesten

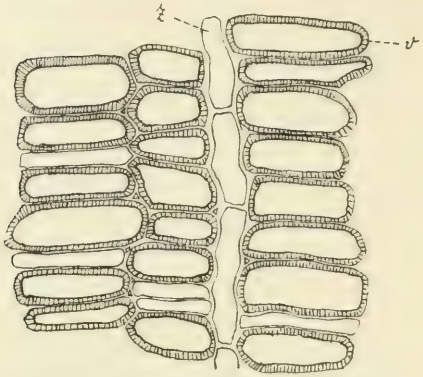
gebracht. Die Anlage der Lenticellen auf der Oberfläche der Stützwurzeln bei *Rhizophora* und *Acanthus* bringt es mit sich, daß diese Atemöffnungen mehr oder minder der Gefahr ausgesetzt sind, für längere oder kürzere Zeit durch Überflutung von der Luft abgeschnitten zu werden. Diesen Nachteil haben nun *Ceriops* und *Aegiceras* überwunden. Die Lenticellen werden hier garnicht mehr an einem Teile des Wurzelsystems, sondern an den unteren Partien des Stammes angelegt, wodurch die Möglichkeit, vom Wasser bedeckt zu werden, viel geringer ist. Doch wie bewältigt nun die Pflanze die daraus entspringende Schwierigkeit, die Atemluft von den so hoch gelegenen Eingangspforten bis in die untersten Teile des Wurzelsystems zu leiten? Die Betrachtung der Wurzelanatomie kann uns hierüber Aufschluß geben. Die Verhältnisse, die uns Längs- und Querschnitte durch Erd- und unterirdische Stützwurzeln von *Ceriops* zur Anschauung bringen, sind folgende. Es durchsetzen sehr zahlreiche und große Intercellularräume das Rindengewebe. Die Zellen desselben zeigen infolge der reichlichen Ausbildung dieser wohl entwickelten Luftgänge stark in verschiedenen Richtungen gestreckte, auf dem Querschnitte drei- oder vierarmige Formen. Was aber bei mikroskopischer Betrachtung ganz besonders ins Auge fällt, sind die hier außerordentlich zahlreichen Versteifungen, die in der weitaus größten Mehrzahl jener Zellen enthalten sind. Diese Verdickungen, deren Substanz bei mikrochemischer Untersuchung sehr deutlich den Holzcharakter zeigt, haben jedoch



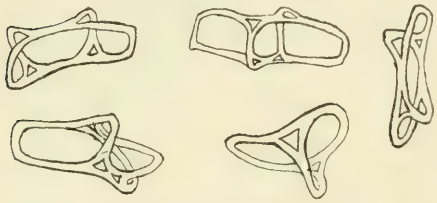
Ceriops. Querschnitt durch die Rinde einer Erdwurzel. Vergr. 270.
i = Intercellularen; v = Verdickungen; z = plasmareiche, zylindrische Zellen.

keine ringförmige Gestalt, wie man bisher annahm, sondern springen in der für *Avicennia* ausführlich beschriebenen Weise ins Zellumen vor, wiederum jene eigenartigen Stützgestelle verschiedenster Gestaltung bildend, wie sie die nebenstehenden Figuren zeigen. Die einzelnen Verdickungskörper stehen miteinander in so innigem Zusammenhang, daß sie in ihrer Gesamtheit ein die ganze Rinde durchsetzendes, wohlgefügtes Gerüstwerk bilden, das sich uns auf Quer- und Längsschnitten, wie auf beistehenden zu erkennen ist, als fortlaufendes, zusammen-

hängendes Verdickungsnetz darstellt. Zwischen diesen verdickten Zellen liegen in sehr regelmäßiger Anordnung in vertikaler Richtung gestreckte und fortlaufende Reihen bildende Zellen, die auf dem Querschnitte eine rundliche Form zeigen. Sie tragen keine Verdickungsskelette, weisen aber einen stärkeren Plasmabelag auf als die anderen Rindenzellen. Von diesen zylindrischen Vertikalsäulen strahlen die verdickten Zellen nach allen Richtungen auseinander. So wird also durch die Verdickungsskelette und die Art und Weise, auf welche sie miteinander und mit den zylindrischen Vertikalsäulen verkettet sind, das lockere Rindengewebe in einer höchst vollkommenen Weise ausgesteift.



Ceriops. Längsschnitt durch die Rinde. Vergr. 270.



Ceriops. Verdickungsskelette. Vergr. 270.

Lange nicht so zahlreich wie in den unteren Partien der Stützwurzeln sind verdickte Zellen in ihren oberen, fast dauernd der Luft angehörigen Teilen, trotzdem hier die Intercellularen an Zahl und Weite denjenigen des unteren Teiles nicht wesentlich nachstehen. Doch zum Schutz gegen den geringeren Druck, dem das Rindengewebe in dieser Region ausgesetzt ist, genügt die geringere Anzahl von Stützgestellen offenbar vollkommen, zumal auch die einzelnen Rindenzellen hier nicht so verzerrt sind, sondern eine mehr isodiametrische Gestalt haben. Dieselbe Ausbildung wie im unteren Teile zeigen indessen jene vertikalen, plasmareichen Zellreihen, von denen wir die verdickten Zellen nach allen Seiten hin ausstrahlen sahen. Die Vermutung, daß diese Zellschläuche eine für das Leben der Pflanze wichtige, aber zur Atmung in keinerlei Beziehung stehende Funktion haben, sondern, wie Karsten[1]) meint, „im wesentlichen mit der Nahrungszufuhr zusammenhängen", erscheint sonach nur beberechtigt.

Nach dieser eingehenden Behandlung des Rindengewebes bleiben nun noch kurz die anderen Wurzelgewebe zu betrachten. Auf Querschnitten durch die unterirdischen Teile von Stützwurzeln finden wir

[1]) Karsten, l. c., S. 49.

bei einem Gesamtdurchmesser von 13 mm einen Zentralzylinder von 4,3 mm. Der Hauptteil des letzteren wird von einem weitlumigen Mark ausgefüllt, während der Holzring nur 0,9 mm breit ist. In der ebenfalls schwach entwickelten Bastzone ist das Auftreten von einzelnen Steinzellnestern bemerkenswert. Die Wurzel wird nach außen hin von einer 10—12 Lagen dicken, aus sehr großlumigen Zellen bestehenden Korkschicht geschützt.

Bei den oberirdischen Stützwurzeln sind die Dimensionsverhältnisse der einzelnen Gewebe anders. Der Zentralzylinder und namentlich der Holzring sind auf Kosten der Rinde viel stärker entwickelt. Bei einem Gesamtdurchmesser von wiederum 13 mm beträgt der Zentralzylinder 6,8 mm, während der Holzring 2 mm, also über doppelt so stark ist als unten. Auch die Beschaffenheit der einzelnen Gewebearten, abgesehen von dem schon erwähnten Unterschied in der Rinde, weicht zum Teil von den unterirdischen ab. Im Mark treten verholzte Zellen auf, die netzförmige Tüpfelung zeigen. Der Holzring besteht zumeist aus sehr langen, stark verdickten Holzfasern, während Holzparenchym nur in geringer Menge vorhanden ist. In diese Grundmasse sind zahlreiche, mit leiterförmigen Durchbrechungen versehene Tüpfelgefäße eingelagert. Der Holzring wird von radialen, 3—5 Zellreihen breiten Markstrahlen durchsetzt. Der Korkmantel besteht aus ungefähr gleichvielen Schichten wie im unteren Teile, ist aber kleinzelliger und fester.

Dieselbe Beobachtung, die wir schon bei der vorher behandelten Art, *Acanthus ilicifolius*, hinsichtlich der Erhaltungsdauer der Epidermis und der unter ihr liegenden, aus stark radial gestreckten Zellen bestehenden Hypodermis an jungen Wurzeln gemacht haben, läßt sich auch hier wieder feststellen. Beide bleiben trotz des sehr bald unter ihnen auftretenden Korkmantels noch auffallend lange erhalten. So war z. B. bei einer älteren Wurzel von 6 mm Durchmesser die Hypodermis noch gut erhalten, während die Epidermis zum größten Teil verschwunden war.

Aegiceras majus.

Die Wurzelanatomie von *Aegiceras majus* kann ich leider keiner erschöpfenden Behandlung unterziehen, da mir nur ein einziges, ganz junges Exemplar zur Verfügung stand. Nach Darstellung anderer Autoren bildet diese Spezies ebenfalls keine äußerlich in Erscheinung tretenden Atmungsorgane aus, sondern stimmt vielmehr in der Einfachheit der Organisation mit *Ceriops* überein, indem die Zugangspforten zu den Intercellularräumen ebenfalls am Stamme angelegt werden.

Die jungen Wurzeln zeigen nichts vom normalen Wurzeltypus

Abweichendes. Bemerkenswert ist nur die Erscheinung, daß die in axialer Richtung gestreckten Zellen der Endodermis sehr bald verdickt werden und verholzen, sodaß sich schließlich die Endodermis als ein Ring verholzter Zellen darstellt, der nur von einigen Durchlaßzellen unterbrochen wird. Die primäre Rinde besteht aus isodiametrischen Zellen, zwischen denen schon beträchtliche Intercellularen liegen. Von Versteifungen der diese Lufträume umschließenden Zellen ist in jugendlichen Stadien noch nichts zu erkennen. Nach den Beobachtungen Karstens[1]) finden sich jedoch an älteren Wurzeln ringförmige, radiale Verdickungen, sodaß die Rinde ebenfalls in vollkommener Weise ausgesteift ist und auch in dieser Hinsicht mit *Ceriops* Übereinstimmung zeigt.

Schlußbetrachtung.

Aus den voraufgehenden anatomischen Betrachtungen geht also hervor, daß die Mangrovewurzeln namentlich in der Ausbildung des für die Atmung so überaus wichtigen Rindengewebes einen wesentlich vom normalen Wurzeltypus abweichenden Aufbau zeigen. Bei allen untersuchten Arten ist die Rinde als umfangreiches, von zahlreichen und großen Intercellularen durchzogenes Durchlüftungsgewebe ausgebildet, und zwar wird zu diesem Zwecke, mit der einzigen Ausnahme von *Carapa*, stets die primäre Rinde herangezogen. Der anatomische Bau dieses Luftgewebes und namentlich die Art der Aussteifungen, die das ganze Gewebe durchsetzen und gegen ein Zusammengedrücktwerden schützen, sind jedoch bei den einzelnen Arten in sehr verschiedener, mehr oder weniger vollkommener Weise ausgebildet. Wie wir sahen, stellen bei einigen Arten die Versteifungen einfache Ringe dar, die durch den gegenseitigen Anschluß das Bild radialer Ketten erzeugen. Bei anderen dagegen erreichen die eigenartigen, mehrpoligen Stützgestelle nach den verschiedensten Richtungen hin teils Anschluß an ihresgleichen, teils wird ihr Zusammenhang durch unversteifte Zellen unterbrochen. Ganz abseits von diesen mit sekundären Verdickungen versehenen Zellen stehen solche Arten, die sich zur Offenhaltung ihrer Lufträume ganz andersartiger und selbständiger Elemente bedienen, wie *Carapa* mit zerstreut liegenden, stark verdickten Bastfasern und *Sonneratia* mit jenen eigentümlichen, in die Intercellularen hineinragenden Trichoblasten. Wohl bei allen diesen Versteifungsmöglichkeiten kann man die ökologisch interessante Beobachtung machen, daß die Pflanze unter Aufwendung von möglichst wenig Material einen darum nicht weniger sicheren Schutz gegen Zusammenpressen der Intercellularen zu erzielen imstande ist. Die Ver-

[1]) Karsten, l. c., S. 50.

dickungen zeigen sich nämlich immer nur an denjenigen Stellen, wo das Durchlüftungsgewebe der Gefahr einer Druckwirkung besonders ausgesetzt ist. Ferner zeigt sich, daß gerade die Intercellularen in der Wurzelrinde derjenigen Mangrovepflanzen besonders vollkommen gegen Druck geschützt sind, die nicht mit besonders angelegten Atemwurzeln versehen sind, wie *Ceriops*, *Aegiceras*, *Rhizophora* und *Acanthus*, und bei denen die Luft von den verhältnismäßig spärlich vorhandenen Eintrittstellen bis zu den untersten Teilen des Wurzelsystems einen weiten Weg zurücklegen muß. Dagegen zeigen die mit besonderen Atmungsorganen ausgestatteten Arten, wie *Sonneratia*, *Avicennia*, *Carapa* und *Bruguiera*, die zahlreiche Eingangspforten für die Atemluft besitzen und letztere auf einem kürzeren Wege dem Wurzelsystem zuführen, bei weitem nicht eine so vollkommene Aussteifung der Lufträume. Eine durchgehends zu beobachtende Erscheinung ist schließlich noch der Unterschied in der Ausbildung der in der Erde befindlichen und der in die Luft ragenden Teile der Atem- und Stützwurzeln. In den unterirdischen Teilen ist das Holz zugunsten der Rinde schwächer entwickelt und letztere, um dem größeren Drucke kräftiger Widerstand zu leisten, viel ausgiebiger durch Versteifungen geschützt, während wir in den oberen Teilen gerade die umgekehrten Verhältnisse finden. Das Holz ist stark auf Kosten der Rinde ausgebildet und die Versteifungen des Rindengewebes sind weniger vollkommen entwickelt.

1. Zur Frage der „Wuchsenzyme".

Von **Carl Mez** und **Horst Mathissig**.

Bei Untersuchungen, die im botanischen Garten zu Königsberg über die korrelative Beeinflussung von sexueller und vegetativer Vermehrung bei Phanerogamen angestellt wurden, war auch *Sempervivum Funckii* eine der benützten Experimentpflanzen. Es wurde damit ein Objekt aufgefunden, welches ein hervorragendes Paradigma für das Studium der „blütenbildenden Stoffe" darstellt.

Sempervivum Funckii bildet bekanntlich um die fertile Rosette herum eine große Anzahl von Tochterrosetten, die normal erst nach einigen Jahren blühreif werden. Werden im Zustand direkt vor dem Aufblühen befindliche Exemplare an der Basis des Blütenstandes gekappt, so entwickeln sich die „neogenen" Blüten (Klebs) in den Achseln der Blätter des Blütenschaftes nur für den Fall, daß die Tochterrosetten entfernt waren. Bleiben die Tochterrosetten dagegen mit der Mutterpflanze im Zusammenhang, so findet eine Bildung neogener Blüten nicht statt. Dagegen tritt in diesem Fall ein sehr bemerkenswertes vorzeitiges Blühreifwerden der Tochterrosetten ein, welches deren Entwicklung um drei bis vier Jahre fördern kann.

Bei den allermeisten dekapitierten Exemplaren, denen die Tochterrosetten belassen waren, entwickelten sich nämlich nach sehr kurzer Zeit, bereits im Laufe des Dekapitationsjahres, Blüten. Dabei zeigten die stärkeren Tochterrosetten Schäfte mit mehreren, die schwachen kurze Schäfte mit ganz wenigen, die schwächsten nur eine einzige sitzende Blüte. Aber von der vegetativen Entwickelung der Tochterrosetten war nur die Quantität der gebildeten Blüten beeinflußt, qualitativ entwickelten sie sich alle insofern gleich, als sie alle Blüten hervorbrachten.

Offenbar ist dies vorzeitige Blühreifwerden der Nebenrosetten bei Entfernung des Blütenschaftes der Hauptpflanze eine interessante Erscheinung; es handelt sich hierbei nicht um gelegentliches oder vereinzeltes Vorkommen, sondern um eine gesetzmäßige Erscheinung, die bei sämtlichen operierten Exemplaren überall konstant beobachtet wurde.

Die sich gegenüberstehenden Meinungen über die Natur der „blütenbildenden Stoffe“ unterscheiden sich bekanntlich derart, daß entweder (Julius Sachs) der Natur nach unbekannte und von den Baustoffen verschiedene „Reizstoffe“ angenommen werden, oder (Loew, H. Fischer), daß die Anhäufung von Baustoffen den Reiz für die Neubildung darstelle. Als solche die Blütenbildung auslösende Baustoffe sollen namentlich die Kohlehydrate in Frage kommen.

Im Fall des *Sempervivum Funckii* sind bei unseren Experimenten an sich beide Möglichkeiten gegeben: Wird die Infloreszenz der Mutterrosette gekappt, so kann das vorzeitige Blühreifwerden der Tochterrosetten entweder durch das Überwandern spezifischer, in der Mutterpflanze gebildeter Reizstoffe in die Tochterpflanzen bewirkt sein; es kann aber auch das Überwandern von Bildungsstoffen, die bei der (unterdrückten) Blütenbildung der Hauptrosette durch das Kappen verfügbar werden, in die Tochterrosetten die Ursache der Erscheinung sein.

Sind die „blütenbildenden“ Stoffe nur Nahrungstoffe, so muß es für die Weiterentwickelung der Tochterrosetten gleichgültig sein, woher die Ernährung stammt. Es muß die Abgabe der Nahrung aus der bis zum Absterben operierten Mutterpflanze experimentell sich ersetzen lassen durch reichere Ernährung der Tochterpflanze.

Dies gelingt leicht. Durch Abstufung des zu diesen Experimenten allein verwendeten Tageslichts in der Weise, daß die Tochterpflanzen (für sich eingetopft) bei sehr verschiedener Beleuchtungsintensität, von voller Besonnung im Freien bis zu mattem Halbschatten im Hause gehalten wurden, muß auch die Assimilation, speziell daher die Ernährung mit Kohlehydraten, wesentlich variiert werden.

Daß dies tatsächlich der Fall war, ergab sich daraus, daß die schlecht belichteten Pflanzen kleiner blieben und leichter wogen als die im vollen Tageslicht gezogenen. Von 16 gewogenen, vorzeitig zur Blüte entwickelten Nebenrosetten zeigten 8 im hellen Licht kultivierte ein Gewicht von 5,46 bis 10,54 g, dagegen hatten 8 andere im Dunkel gehaltene Rosetten ein Gewicht von 5,12 bis 6,21 g.

Trotzdem war an der Blühbarkeit dieser verschiedenen Pflanzen qualitativ keinerlei Unterschied bemerklich. Nur quantitativ war zu beobachten, daß die gut ernährten Exemplare hohe Schäfte trieben und mehr Blüten hervorbrachten, als die schlecht ernährten, bei denen allermeist nur eine einzige Blüte sitzend im Zentrum der Rosette zur Ausbildung, ja manchmal nur zur Anlage gelangte.

Nach diesen Ergebnissen ist es ganz überwiegend wahrscheinlich, daß nicht die die Ernährung betreffenden Verhältnisse die vorzeitige Blütenbildung der Tochterrosetten des *Sempervivum Funckii* bei Kappung des Mitteltriebes bedingen, sondern daß dafür spezifische blütenbildende,

in der Mutterpflanze erzeugte, aber infolge der Kappung nicht aufgebrauchte und auf die Tochterpflanzen übergeflossene Stoffe, die mit Nahrungsstoffen nicht identisch sind (Wuchsenzyme) allein die Erklärung liefern können.

Tochterrosetten, die zu Beginn des Jahres, bevor die Mutterrosette zur Blütenbildung schreitet, entfernt und für sich eingetopft werden, entwickeln sich genau zur gleichen Größe und zum gleichen Gewicht wie nach der Kappung des Blütentriebs der Mutterpflanze isolierte Tochterrosetten. Erstere blühen niemals vorzeitig, letztere regelmäßig.

Ausführliche Angaben über das vorstehende Thema und die ausgeführten Experimente enthält die Arbeit von H. Mathissig, „Über einige selbststerile Blüten“ (Diss. Königsberg 1913).

2. Über die physiologische Bedeutung der Mohn-Alkaloide.

Von **Carl Mez** und **Arthur Müller.**

Die Bedeutung der Alkaloide, ob diese als unveränderliche Exkretstoffe oder als intermediäre, im Stoffwechsel, sei es regelmäßig, sei es gelegentlich weiter verwertbare Körper anzusehen seien, steht noch nicht fest. Insbesondere die Arbeiten von Weewers und Dekken haben für Koffein und Theobromin bei *Coffea arabica, Thea sinensis, Cola acuminata* und *Theobroma Cacao* den von früheren allgemein verbreiteten Anschauungen abweichenden Schluß nahe gelegt, daß diese Alkaloide als Stickstoffquellen in den Stoffwechsel wieder eintreten und zum Eiweißaufbau Verwendung finden können.

Diese wie andere Versuche über die physiologische Bedeutung der Alkaloide lassen aber deswegen keinen endgültigen Schluß zu, weil sie nur auf qualitative Untersuchungen begründet sind, während allein die genaueste quantitative Forschung zu einem einwandfreien Ergebnis führen kann.

Bei im botanischen Garten zu Königsberg mit *Papaver somniferum* angestellten Versuchen über die physiologische Bedeutung der Mohn-Alkaloide für die Pflanze wurde in folgender Weise vorgegangen:

Reiche Aussaaten verschiedener Mohnsorten lieferten das Untersuchungsmaterial, welches bis zur Blüte im freien Land belassen, dann aber unter Wasser abgeschnitten und in stickstofffreier Nährlösung weiter gezogen wurde. Unter der Voraussetzung, daß die

Blüten (künstlich) bestäubt waren, entwickelten sich die Kapseln bis zur Samenreife. Die Kulturen wurden in einem ausgeräumten Gewächshaus gehalten. Ein Übergang von Stickstoff in die Nährlösung fand nicht statt.

Nach Ausarbeitung spezieller Methoden, die eine einfache und quantitativ vollständige Gewinnung der Gesamtalkaloide verbürgten, wurden die in verschiedenen Entwickelungsstadien gesammelten und getrockneten Pflanzen insgesamt, sowie später auch die Kapseln und Samen je für sich mit folgendem Ergebnis der quantitativen Analyse unterworfen:

1) Der Alkaloidgehalt ist schon bei jungen, 5—6 cm hohen, mit 4—5 Blättchen versehenen Pflänzchen quantitativ nachweisbar.

2) Der Alkaloidgehalt steigt (mit unten gleich zu besprechenden Abweichungen) bei der weiteren Entwickelung der im Freien stehenden und mit ihren Wurzeln dauernd Stickstoff aus dem Boden aufnehmenden Pflanzen bis zum Beginn der Samenreife regelmäßig an.

3) Bei in Wasserkultur stickstofffrei gezogenen Pflanzen vermindert sich der Alkaloidgehalt vom Beginn der Unterbindung des Stickstoffbezugs aus dem Boden ab regelmäßig derart, daß Alkaloide bei ausgereiften Pflanzen in den vegetativen Teilen gar nicht mehr (auch nicht in Spuren), in den Kapselwänden nur noch in durch die feinen Methoden nicht mehr quantitativ faßbaren Spuren nachzuweisen sind.

Aus diesem Ergebnis geht mit großer Wahrscheinlichkeit hervor, daß die bei Beginn der stickstofffreien Wasserkultur in den Pflanzen enthalten gewesenen Alkaloide zur Eiweißsynthese als Stickstofflieferanten herangezogen wurden.

Dieser Schluß wird durch eine im Laufe der Untersuchungen gemachte Beobachtung wesentlich gestützt:

Bei der Analyse des geernteten Materials ergab es sich, daß das aus dem freien Land von bewurzelten Pflanzen stammende, in 14tägigen Intervallen entnommene Material plötzlich seinen Alkaloidgehalt vermindert hatte derart, daß dieser lang andauernd und sehr erheblich unter die bereits erreicht gewesene Ziffer herabsank und sich erst allmählich wieder hob.

Dieses Herabgehen des Alkaloidgehaltes kann nur mit der im Laufe der Beobachtungsperiode wechselnden Beleuchtungsintensität erklärt werden. Die von der Sternwarte gelieferten Beobachtungen und Aufzeichnungen über die tägliche durchschnittliche Bewölkung des Himmels ergab eine Kurve, die genügend genau mit der Kurve des Alkaloidgehaltes der Mohnpflanzen übereinstimmte.

Die Beobachtung, daß der Alkaloidgehalt von der Beleuchtung der Alkaloidpflanzen abhängig sein kann, weist auf die bekannten Untersuchungen (Schimper, Bach) hin, nach denen die Zerlegung

der anorganischen Stickstoffverbindungen, also die Gewinnung nutzbaren Stickstoffs zum Eiweißaufbau, auf photochemischen Reaktionen beruht.

Ist dies der Fall, so liegt der Schluß nahe, daß bei mangelnder Lichtintensität, wenn die anorganischen stickstoffhaltigen Salze nicht genügend zerlegt werden können, der bereits assimilierte Alkaloidstickstoff zur Eiweißsynthese Verwendung findet.

Diese Beobachtung erklärt auch, daß (z. B. Gewächshauspflanzen von *Cinchona, Conium maculatum* an dunklem Standort) Alkaloidpflanzen das Alkaloid mehrfach und bisher unerklärter Weise vermissen lassen.

Unter diesen Umständen ist es nicht mehr weiter möglich, die Alkaloide von *Papaver somniferum* als Exkretstoffe (mit nebensächlicher Schutzfunktion) anzusehen; sie dienen aller Wahrscheinlichkeit nach bei experimentell in Wasserkultur oder bei natürlich durch Beleuchtungsmangel herbeigeführtem Defekt an verwendbarem assimilierten Stickstoff zur Eiweißsynthese.

Die Details der hier dargelegten Untersuchungen sind in der Arbeit von Arthur Müller: „Die Bedeutung der Alkaloide von *Papaver somniferum* für das Leben der Pflanze“ (Diss. Königsberg 1913) zu finden.

3. Sero-diagnostische Untersuchungen über die Verwandtschaften innerhalb der Pflanzengruppe der Ranales.

Von **Carl Mez** und **Leo Lange**.

Die im botanischen Institut zu Königsberg begonnene Sammelforschung über die Eiweißverwandtschaften der höheren Pflanzen ist bezüglich der Ranales mit folgenden Ergebnissen vorläufig abgeschlossen:

Die Familien der Ranales einschließlich der Aristolochiaceae stellen auch nach ihrem serodiagnostischen Verhalten eine eng geschlossene und natürliche Gruppe dar. Sie haben nach unten unverkennbare Beziehungen zu den Pinaceae. Demnach gehören diese in die Reihe der Ascendenten der Ranales.

Entscheidend für die primäre Stellung der *Magnoliaceae* an der Basis der heute lebenden Ranales ist, daß sie allein, wie zu den Pinaceae, so auch zu den Alismataceae positive Serumreaktionen gegeben haben, daß also der Anschluß der am weitesten von einander

abstehenden und doch noch als verwandt nachweisbaren Klassen des höheren Pflanzenreichs gerade bei den Magnoliaceae stattfindet. Von den Pinaceae wie den Alismataceae stehen wesentlich ferner ab alle andern Ranales-Familien; da sie mit den Magnoliaceae stärker, z. T. sehr stark reagieren, müssen sie sich von den Pinaceae wie den Alismataceae weg entwickelt haben, mit andern Worten höherstehende Glieder resp. Zweige des Ranalesstammes darstellen, dessen relative Basis die Magnoliaceae sind.

Ein fernerer aus den Serumuntersuchungen abzuleitender Grund für die Annahme einer besonders primären Stellung der Magnoliaceae ist, daß ihre Reaktionen nach oben hin wesentlich schwächer werden. Sie reagieren über die Ranales nur noch schwach mit den Resedaceae, die von den Berberidaceae und andern höheren Ranales aus mit starker Reaktion erreicht werden, und das gleiche gilt bezüglich der Violaceae, Cistaceae, Cruciferae, Rosaceae. Der Abstand von diesen höher entwickelten Familien, der sich in schwachen Reaktionen dokumentiert, ist ein Beweis für die phylogenetische Ursprünglichkeit der Magnoliaceae und stützt die dafür anderwärts ins Feld geführten morphologischen Gründe.

Mit den *Nymphaeaceae* haben von den von Caspary als nächst verwandt angesehenen Familien allein die Ranunculaceae Reaktion gegeben. Diese Verwandtschaft ist aber relativ weitläufig, jedenfalls ferner als die zu den Magnoliaceae. Daneben ist aber noch Eiweißverwandtschaft der Nymphaeaceae mit den Anonaceae und Aristolochiaceae aufgedeckt worden. Der Gruppe dieser letztgenannten Familien können die Nymphaeaceae aber nicht direkt beigeordnet werden; dagegen spricht der Mangel an Ölzellen sowie der Bau des Embryo. Eine Ableitung der Monocotylen von den Nymphaeaceae, die viel Verlockendes hätte, ist nicht möglich, weil Serumreaktionen der Nymphaeaceae weder zu den Gymnospermen noch zu den Monocotylen vorhanden ist und positive Reaktion zu den Anonaceae und Aristolochiaceae vorliegt. So bleibt bisher die wahrscheinlichste Anordnung der Nymphaeaceae diejenige als Seitenzweig des Stammbaums über und in nächster Nähe der Magnoliaceae, zwischen diesen und den Ranunculaceae.

Dafür, daß die *Calycanthaceae* bei den Magnoliaceae gleichfalls als Seitenzweig vom Hauptstammbaum sich ableiten, und zwar in einem von den Anonaceae getrennten Ast, scheint die Tatsache zu sprechen, daß die Aristolochiaceae zwar mit den Anonaceae, nicht aber mit den Calycanthaceae reagierten. Eine solche Reaktion müßte gefordert werden, wenn die Calyanthaceae mit den Anonaceae so nächstverwandt wären, wie dies gemeiniglich angenommen wird und wie es eine gemeinsame Abzweigung vom Ranaleshauptstamm voraus-

setzen lassen würde. Den übrigen, hier nicht genannten Familien der Ranales stehen die Calycanthaceae nach ihren Serumreaktionen ferner.

Leider konnte aus Mangel an Untersuchungsmaterial der Anschluß der *Monimiaceae* an die Calycanthaceae nicht geprüft werden; die früher bereits erwähnte Schwierigkeit, daß bisher weder die *Lauraceae* noch die *Myristicaceae* für die Serumuntersuchung brauchbare Eiweißextrakte gegeben haben, konnte leider gleichfalls noch nicht behoben werden. Um ein möglichst vollständiges Bild von unseren Anschauungen über die Verwandtschaften innerhalb der Ranales zu geben, sei erwähnt, daß wir die Weiterentwicklung des mit den Calyanthaceae vom Ranaleshauptstamm abgehenden Astes zu den Monimiaceae — Gomortegaceae — Lauraceae — nach den bisherigen allgemeinen Anschauungen für wahrscheinlich halten.

Mit der gleichfalls allgemein angenommenen nächsten Verwandtschaft der *Anonaceae* mit den Magnoliaceae und Calycanthaceae stimmen die Serumreaktionen völlig überein. Daß aber nicht der gleiche Seitenast des Ranaleshauptstamms die Anonaceae und Calycanthaceae trägt, geht aus den eben geschilderten Aristolochiaceae-Reaktionen hervor. Da eine gemeinsame Abzweigung nicht anzunehmen ist, muß für die Anonaceae ein gesonderter Ast der Hauptreihe bei den Magnoliaceae ansetzend gefordert werden. Wie dieser die Aristolochiaceae trägt, so dürfte er sich auch zu den Myristicaceae (siehe oben) weiter entwickelt haben.

Gegen die Ansicht, daß die *Aristolochiaceae* unter den Ranales eine extreme Stellung einnehmen, sprechen die Serumreaktionen dieser Familie nicht. Sie sind als weit abgeleitetes Ende des Anonaceaeastes zu betrachten, mit „ausgestorbenen Lardizabalaceae“ aber haben sie ganz sicher nichts zu tun; dies geht daraus hervor, daß, wie gleich darzustellen sein wird, die den Lardizabalaceae vorausgehenden Formenkreise in Gestalt der Ranunculaceae und Berberidaceae noch vorhanden sind und trotzdem keine Reaktion mit den Aristolochiaceae gegeben haben.

Die Verwandtschaft der *Ranunculaceae* mit den Magnoliaceae, Anonaceae, Berberidaceae, Nymphaeaceae, Rosaceae hat sich völlig bestätigt; mit den Papaveraceae ist eine durch Serumreaktion erfaßbare Verwandtchaft nicht vorhanden.

Die Stellung der Ranunculaceae im System der Eiweißverwandtschaft ergibt sich einerseits daraus, daß sie von den niederen Ranalesfamilien nur mit den Magnoliaceae nahe verwandt sind, andererseits aus ihrem direkten Angrenzen an die höheren Familien der Berberidaceae und Rosaceae, von denen besonders die letzteren zu den Magnoliaceae nur noch ferne Beziehungen serologischer Art haben. Demnach

müssen die Ranunculaceae zwischen den Magnoliaceae und Berberidaceae ihren Platz finden. Diese Entwicklungslinie ist als Abschnitt des Hauptstamms des Dicotylenreiches anzusehen.

Bestimmend dafür, daß der *Rosales*-Ast des Stammbaums bei den Ranunculaceae vom Ranalesstamm abzweigt, ist der Umstand, daß die Leguminosae als Fortentwickelung der Rosaceae auch serologisch nachgewiesen sind und daß die Leguminosae nur mit den Ranunculaceae unter den Ranales, nicht aber mit den diesen benachbart liegenden Magnoliaceae und Berberidaceae reagieren. Demnach kann der Rosalesast nirgends anders als bei den Ranunculaceae seinen Ursprung haben.

Die *Berberidaceae* sind serologisch insbesondere den Ranunculaceae, Lardizabalaceae und Menispermaceae nahestehend; die Abzweigung des *Centrospermae*-Astes des Systems bei den Berberidaceae wurde konstatiert. — Für die Stellung der Berberidaceae zwischen den Ranunculaceae und den Lardizabalaceae, mit denen beiden sie stark reagieren, sind besonders die bei Gelegenheit der Besprechung der letztgenannten Familie zu erörternden Reaktionen von den Parietales aus beweisend.

Die Serumreaktionen der *Lardizabalaceae* ergaben zunächst mit den Berberidaceae und Ranunculaceae stark positives Resultat; auch mit den Menispermaceae ist solches vorhanden. Leider war es wegen der Giftigkeit der angewandten Menispermaceensamen noch nicht möglich, ein Menispermaceenserum zu gewinnen, sodaß die reziproke Bestätigung der Reaktionen von den Lardizabalaceae zu den Menispermaceae noch aussteht. Doch kann die Stellung der Lardizabalaceae zwischen Menispermaceae und Berberidaceae aus folgenden, zugleich für die Stellung der Berberidaceae entscheidenden Reaktionen erschlossen werden: Die Berberidaceenreaktionen erreichen nach unten noch die Nymphaeaceae, während dies die Lardizabalaceae nicht mehr tun; demnach stehen diese höher als die Berberidaceae. Nach oben erreichen die Berberidaceae die Capparidaceae eben noch, während die Lardizabalaceae mit den Capparidaceae gute Reaktionen geben. Auch dies spricht für die höhere Stellung der Lardizabalaceae gegenüber den Berberidaceae.

Wichtig ist, daß bei den Lardizabalaceae der *Parietales*-Ast der Dicotylen an den Ranalesstamm ansetzt. Es war zunächst zweifelhaft geblieben, ob die Parietales nicht den Berberidaceae näher zu rücken seien, doch ergab die Reaktion der Capparidaceae und Cruciferae, ebenso wie diejenige der Violaceae und Cistaceae, die mit den Lardizabalaceae besser erfolgt als mit den Berberidaceae, daß die Parietales den Lardizabalaceae näher stehen als den Berberidaceae.

Für die *Menispermaceae,* von denen aus leider ein Immunserum

nicht gewonnen werden konnte, wurde durch Reaktion mit Immunserum anderer Ranalesfamilien mit großer Wahrscheinlichkeit festgestellt, daß sie sehr weit fortentwickelte Ranales darstellen. Dies geht besonders aus dem negativen Ausfall der Reaktionen mit den Nymphaeaceae und Aristolochiaceae hervor.

Weitere Details zu dem vorstehenden Thema sowie die Darstellung der gemachten Versuche finden sich in der Arbeit von L. Lange: „Sero-diagnostische Untersuchungen über die Verwandtschaften innerhalb der Pflanzengruppe der Ranales“ (Diss. Königsberg 1913).

Beiträge zur Phylogenie der Monokotylen,

gegründet auf der Embryosackentwicklung apokarper Nymphaeaceen und Helobien.

Von **Johannes Nitzschke.**

Mit den Fortschritten der mikroskopischen Technik und ihrer wissenschaftlichen Nutzbarmachung, der vergleichenden anatomischen Methode, danken wir der jahrzehntelangen Arbeit unserer namhaftesten Forscher die Kenntnis von den Entwicklungsgrundzügen im gesamten Stamme der Kormophyten. Erst in neuerer Zeit ist die Behandlung dieser weitausholenden Frage etwas zurückgetreten. Andere, enger gefaßte Probleme beherrschen das Feld, Untersuchungen über die systematische Stellung größerer Pflanzenreihen innerhalb der Angiospermen, zur Feststellung ihrer Phylogenie, die sich nicht beobachten, sondern nur aus den sich uns darbietenden Daten erschließen läßt. Aber bei all diesen Gruppen, deren Platz im natürlichen System noch umstritten ist, die bald in mehreren Nachbargruppen verteilt, bald nur des Überblicks wegen künstlich zueinander gestellt und unter einem gemeinsamen Namen „zusammengewürfelt“ werden, fehlen die großen Entwicklungszüge, welche man in der Stammesgeschichte der Kormophyten beobachten kann: die sich immer mehr vermindernde Abhängigkeit von der Gegenwart flüssigen Wassers, die wachsende Anpassung an das Landleben, welche ganz zuletzt erst beim Befruchtungsvorgange eingetreten ist. Dieser Umstand gerade ist es, welcher auch die Beurteilung der Stellung der beiden großen Pflanzenklassen innerhalb der Angiospermen, der Monokotylen und Dikotylen, zueinander erschwert, sie jedoch deshalb nicht minder reizvoll gestaltet. Wohl selten ist die Stellung zweier Pflanzenverbände zueinander so verschieden aufgefaßt worden, wie die der Monokotylen und Dikotylen. Trotz ihrer großen Übereinstimmungen, welche man im ganzen Entwicklungsgange jeder einzelnen Pflanze unschwer feststellen kann, die anderseits schon in der Einordnung in eine gemeinsame Pflanzenabteilung in beredter Weise zum Ausdruck kommen, treten doch sowohl in habitueller, als auch in anatomischer Beziehung mannigfache Verschiedenheiten auf,

sodaß immerhin eine scharfe Scheide zwischen ihnen nicht hinwegzuleugnen ist, wie sie unter den gesamten Angiospermen nicht ihresgleichen findet.

Das Auftreten nur eines Kotyledonen, der seitliche Ansatz der jungen Stammknospe, das Fehlen des sekundären Dickenwachstums, die Reduktion der Hauptwurzel, der Besitz zahlreicher Adventivwurzeln, die sich durch die Ausbildung einer vollkommen differenzierten Kalyptra mittels Kalyptrogentätigkeit vor den Dikotylen auszeichnen, die tiefere Versenkung des Vegetationspunktes, die schwächere Verzweigung des Sproßsystems, die höhere Form der Stipularbildung, die Gestalt und Äderung der Blätter, das Vorherrschen des trimeren, fünfwirtligen Blütenbaues, schließlich die anatomische Beschaffenheit und Anordnung der Gefäßbündel, alles das sind bei den Monokotylen auftretende Merkmale, welche ihre Trennung von den Dikotylen begreiflich machen.

So stellen sich die Monokotylen als eine natürliche, scharf umgrenzte Pflanzenreihe dar. Wo sind sie im System hinzustellen? Diese Frage nach dem Anschluß der Monokotylen an irgend eine andere Pflanzengruppe, von der sie sich phylogenetisch ableiten lassen, ist schon auf den verschiedensten Wegen zu lösen versucht worden. Die Phytopaläontologie wird, so sollte man meinen, nach dem Auftreten der Pflanzen in jüngeren oder älteren Erdschichten ihre entwicklungsgeschichtliche Aufeinanderfolge am ehesten feststellen können. Sie hat aber bisher nur wahrscheinlich gemacht, daß nach den Gymnospermen unter den Angiospermen Monokotylen und Dikotylen etwa zur selben Zeit erscheinen: früh im Mesozoischen oder spät im Paläozoischen. (1)[1]). Da die von der Pflanzenpaläontologie gefundenen Tatsachen bei weitem nicht genügen, auch wegen der Beschaffenheit ihres Arbeitsgebietes — sind doch z. B. die Schichten der Juraformation fast ausschließlich mariner Natur — wohl niemals genügen können, eine Ordnung der Monokotylen und Dikotylen ihrer Entwicklungsfolge nach zu schaffen, so bleibt nur übrig, ihre Phylogenie zu erschließen, die Verschiedenheiten, die in ihrem morphologischen Aufbau, ihrer Gewebeanatomie, der ontogenetischen Entwicklung zum Vorschein kommen, aufzusuchen, miteinander zu vergleichen, auf ihre Ursprünglichkeit hin zu prüfen und den aus dieser vergleichenden Methode sich ergebenden Befund der mehr oder minder großen Ursprünglichkeit als ordnendes Prinzip für ihre Aufeinanderfolge im System auszunutzen.

Seitdem eine Ableitung der Dikotylen von den Monokotylen un-

[1]) Die in Klammern stehenden Zahlen beziehen sich auf die Literaturangaben am Schluß der Arbeit.

möglich erscheint, die Ansicht gesonderter Abstammung beider Gruppen von den Gymnospermen auch endgültig abgelehnt ist, bleibt nur noch die Möglichkeit, den Ursprung für die nicht in allen Vergleichsmerkmalen höher stehenden, aber doch eine eigentümliche, eigenartige Entwicklungsreihe ausprägenden Monokotylen unter den Dikotylen zu suchen. Dann muß aber die Abzweigung verhältnismäßig früh vor sich gegangen sein, alle eigentümlichen Monokotylenmerkmale weisen auf die Polycarpicae als Anknüpfungspunkt ihrer Reihe hin.

Polycarpicae und Helobiae, die niedrigsten Monokotylen, weisen einen ungemeinen Reichtum an Wasserformen auf, und wenn auch diese ökologische Erscheinung keineswegs eine vollkommne Bürgschaft für ihre nähere Verwandtschaft sein kann, so ist sie doch ein Fingerzeig für den Systematiker, daß beide Pflanzengruppen etwa einer gleichen Erdperiode entstammen.

Die Anatomie der Monokotylen mit ihren charakteristischen, zerstreut liegenden, geschlossenen Gefäßbündeln ist dieselbe wie die der Polycarpicae, wo das Fehlen kambialer Tätigkeit vornehmlich die Nymphaeaceen ohne Ausnahme auszeichnet, während diese Gesetzmäßigkeit den Ranunculaceen und Berberidaceen nicht in gleicher Weise zukommt. Am besten tritt dieser Monokotylentypus der Gefäßbündel bei dem Blütenschafte von Nelumbium zutage.

Zur Bestimmung von Verwandtschaft im Pflanzenreiche werden neben der sonstigen Anatomie mit gutem Rechte der Bau der Blüte, die Anordnung ihrer Teile, ebenso ihre Entwicklung bis zur Fruktifikation und der Ausbildung des Embryos, schließlich auch die Keimung der Samen als Beweisstücke herangezogen. Auch hierin lassen sich bei den Helobiae und Polycarpicae mannigfache Übereinstimmungen feststellen: Die zum Teil noch spiralige Anordnung der Blütenorgane bei manchen Helobiae liefert ein zwingendes Beweisstück, sie an die Polycarpicae anzuschließen, der trimere, fünfwirtlige Bau, ein Charakteristikum der Monokotylenblüte, ist bereits bei der zu den Nymphaeaceen gehörigen Cabomba vorhanden. Vollkommen freie Fruchtblätter, welche bei Dikotylen weit häufiger sind, zeichnen sowohl unter den Monokotylen die niedrigst stehende Gruppe der Helobiae aus, wie sie auch Eigentümlichkeit vieler Polycarpicae, von den Nymphaeaceen im besonderen der Gattungen Cabomba und Brasenia sind. Hier besteht also auch kein Hinderungsgrund, die Monokotylen in die Nähe der Polycarpicae zu stellen.

Die innere Beschaffenheit der Fruchtblätter, besonders die Zahl und Insertion der Samenanlagen, ist meines Erachtens auch ein systematisches Merkmal von nicht zu unterschätzender Bedeutung: bei Limnocharis und Butomus sind die Samenanlagen über die gesamten inneren Seitenflächen des Karpells verteilt und nicht bloß auf die

Karpellränder als Entstehungsort beschränkt, eine Erscheinung, welche wir auch bei den Nymphaeaceen unverändert wiederfinden.

Von den weiteren Entwicklungsvorgängen der Samenanlage interessiert hier besonders die Bildung des Embryos und weiterhin die Keimung des Samens. Miß Ethel Sargant (25) hat Keimlinge von Ranunculaceen und Monokotylen verglichen und ist durch Beobachtung des Gefäßbündelverlaufs zu dem Resultat gekommen, daß der eine Kotyledo der Monokotylen durch Verwachsung von zwei seiner Art entstanden ist. Sie hat auch Keimlinge von verschiedenen Ranunculaceen beibringen können, bei denen dieser Verwachsungsprozeß schon eine ziemliche Vollendung erreicht hatte. Jedoch sprechen meiner Meinung nach anatomische Beobachtungen dagegen, die Monokotylen direkt an die Ranunculaceen anzuschließen, besonders die Morphologie und Anatomie der Samenanlagen. Miß Sargant gibt ja auch selber zu, daß die Frage offen bleiben müsse, ob der Kotyledo der Monokotylen wirklich auf diese Art entstanden ist, oder ob er auf demselben Wege in verschiedenen Perioden entstanden, die Abstammung der Monokotylen von verschiedenen Dikotylen wahrscheinlich macht. Nun haben Lyon und Cook (19, 6) ähnliche Erscheinungen, wenn auch nicht in so angeprägtem Maßstabe wie bei den Ranunculaceen, bei den Nymphaeaceen gefunden. Der Embryo von Nelumbo und Nymphaea advena weist eine Verwachsung der Kotyledonen zu einem Ringwall auf, und dadurch wird auch die Plumula seitlich verschoben; seitdem diese Beobachtungen durch Vergleichung der Präparate von Schaffner (27) nachgeprüft, und damit sowohl die Ähnlichkeit von Nelumbium und Nymphaea advena als auch der sich dem Monokotylentypus nähernde Charakter des Embryos nicht mehr fraglich zu sein scheint, gewinnen die Bestrebungen immer mehr an Boden, welche die Polycarpicae, im besonderen die Nymphaeaceen als Ausgangspunkt für die Monokotylen ansehen wollen.

Herrn Professor Dr. G. Karsten bin ich für die Anregung zu großem Danke verpflichtet, einen neuen Weg zu beschreiten, um der Phylogenie der Monokotylen auf die Spur zu kommen. Es soll durch direkten Vergleich der Entwicklungsgeschichte des Embryosackes der niedrigsten Monokotylen und der in Frage kommenden Dikotylen versucht werden, zur Lösung des vielumstrittenen Problems einen Teil beizutragen. Das scheint von vornherein ein aussichtsloses Unternehmen zu sein, wo wir einmal über die Phylogenie der Angiospermenblüte wegen Fehlens der Zwischenglieder schlecht unterrichtet sind, anderseits über die phylogenetische Bedeutung des Embryosackes und seiner Teile der Kampf mehrerer, sich vollkommen widersprechender Meinungen noch lange nicht entschieden ist. Ja selbst über die für die Entwicklung des Embryosackes in zweiter Linie wichtigen Organe,

z. B. über die Integumente, können wir, was ihre morphologische Bedeutung, mit anderen Worten, ihre Homologien mit den Organen der Pteridophyten angeht, nichts Bestimmtes aussagen. Die Ursprünglichkeit eines einfachen Integumentes ist keineswegs über allen Zweifel erhaben, schließlich kann es, wenn man annimmt, daß eine ureigenste Bildung der Angiospermen vorliegt, auch durch Reduktion aus dem zweifachen entstanden sein. Ebenso machen die Deutungen der Embryosackteile große Schwierigkeiten: die Synergiden, die Antipoden sind in ihrer Homologie zu den Formationen der Gymnospermen und Pteridophyten noch so umstritten, daß man A. Ernsts skeptische Bemerkung sehr wohl verstehen kann: „nach dem bisherigen Stande unserer Kenntnisse ist es wenig wahrscheinlich, daß die Entwicklungsvorgänge im Embryosacke wesentliche Merkmale zur Feststellung der Beziehungen der Angiospermen untereinander und zu den Gymnospermen liefern werden“ (10). Es ist wohl wahr, daß große Übereinstimmungen unverkennbar sind, daß ein gemeinsamer Zug in der Entwicklungsgeschichte aller Embryosäcke liegt; und doch muß auch der Embryosack, wie jedes andere Pflanzenorgan, seine Geschichte haben, muß einfache und abgeleitete Formen zeigen, nur sind bisher zu wenig Fälle untersucht, welche eine Vergleichung der Embryosäcke erlauben, und unsere Kenntnisse zu eng, um mit absoluter Sicherheit Abgeleitetes von Ursprünglichem zu unterscheiden. Aber trotz der vielfachen Übereinstimmungen zeigt der Embryosack oft ganz klassische, vom Normaltypus abweichende Formationen, und so hat er schon manches Mal dazu beitragen helfen, Licht in die Phylogenie zu bringen, hat sich schon in seinen ausgeprägten Formen als ein Kriterium für die Angehörigkeit zu einer Familie erwiesen, man vergleiche nur die embryologischen Verhältnisse bei den Podostemaceen, Commelinaceen, Gunnera, Pandanaceen. Auch in der Erscheinung der Chalazogamie scheint ein systematisches Merkmal von Bedeutung vorzuliegen. Vielleicht lassen sich auch für die den Übergang zu den Monokotylen vermittelnden Pflanzengruppen in der Entwicklung des Embryosackes Anklänge finden, Anzeichen von Ursprünglichem und Abgeleitetem, unter Umständen könnte auch ein negatives Resultat von Interesse für die phylogenetische Forschung sein.

Unter den Polycarpicae wurden die Nymphaeaceen zur Untersuchung ausgewählt und unter diesen die Cabombeen Cabomba und Brasenia, welche mit ihren apokarpen Gynäceen, welches bei Brasenia noch azyklisch (27) angeordnet ist, sich zur Genüge als ursprünglich ausweisen. Unter den Monokotylen nehmen die Helobiae die niedrigste Entwicklungsstufe ein, unter ihnen repräsentiert sicherlich Limnocharis mit seinen vielen freien, griffellosen, dicht zusammengedrängten Karpellen den am tiefsten stehenden Typus; Butomus zeigt die Karpell-

zahl bereits fixiert, nimmt also eine höhere Stellung in der Reihe der Helobiae ein. Ebenso wurden einige Vertreter der Alismataceen zur Untersuchung herangezogen, Alisma Plantago und Echinodorus. Es ist ja bekannt, daß einige Alismataceen noch über eine schraubelige Stellung der Blütenteile verfügen und so direkt den Anschluß an die Polycarpicae zu vermitteln scheinen.

Ich habe mein Material zum größten Teile in dem Botanischen Garten der Universität Halle in den Jahren 1912 und 1913 gesammelt. Herr Professor Goebel hatte die große Güte, mir sein Material von Cabomba aquatica, welches er in Britisch Guyana gesammelt hatte, ebenso Blüten von Limnocharis emarginata aus dem Botanischen Garten in München zu überlassen. Mit derselben Freundlichkeit stellte mir Herr Geheimrat Engler und Herr Geheimrat Urban-Berlin einige Brasenia-Pflanzen und Brasenia-Blüten zur Verfügung. Ich bin den genannten Herren für ihr Entgegenkommen und ihre Liebenswürdigkeit zu größtem Danke verpflichtet.

Die Methode der Fixierung war, wo nicht anders angegeben, nach Flemming angewandt, gefärbt wurde mit Safranin und Gentianaviolett, oder weit häufiger mit Delafieldschem Hämatoxylin und Eosin.

Cabombeen.

Cabomba caroliniana.

Von der Gattung Cabomba konnte ich die beiden Spezies Cabomba caroliniana und aquatica untersuchen.

Das Material für Cabomba caroliniana habe ich im Botanischen Garten zu Halle im Sommer 1912 und 13 gesammelt. Fixiert wurde zu allen möglichen Stunden, hauptsächlich am frühesten Morgen, um möglichst reichlich Kernteilungsstadien zur Verfügung zu haben, da sich oft Chromosomenzählen als erforderlich erwies.

Die Cabomba wird in Halle jedes Jahr aus überwinterten Stecklingen im Viktoriahause in flachen Becken mit zum großen Teil aus Sand bestehendem Boden gezogen. Sie wächst ungemein schnell und blüht sehr reichlich. Besonders dort, wo sie unter großen Blättern, z. B. anderer Nymphaeaceen, versteckt wächst und ihre Knospen sich kletternd den Weg durch die Blattdecke zur Oberfläche suchen müssen, entfaltet sie große, schön entwickelte Blüten.

Äußerlich schon haben diese ein ganz verschiedenes Aussehen. Regelmäßig sind sechs weiße Perigonblätter in zwei Kreisen vorhanden, welche gewöhnlich alle gleichmäßig ausgebildet sind. In nicht seltenen Fällen tritt jedoch eine Umgestaltung ein. Entweder sind alle drei Blätter eines Ringes in ihrer Größe hinter denen des andern zurückgeblieben, oder eines der drei Blätter eines Kreises hat sich ver-

längert, die beiden andern noch dazu verkürzt, sodaß der aktinomorphe Blütenbau unterdrückt und einem dorsiventralen gewichen zu sein scheint. Häufig ist auch das Fortfallen eines Karpells, — drei sind gewöhnlich vorhanden — ebenso häufig mindestens, wie die in Bezug auf Größe ungleiche Entwicklung der Blütenblätter.

Es mußte auffallen, daß es trotz langjähriger Arbeit niemals bisher gelungen war, aus den bestäubten Blüten der Cabomba caroliniana keimfähige Samen zu erzielen. Ich habe die Versuche in den Jahren 1912 und 13 bei etwa hundert Blüten wiederholt, aber trotz aller Vorsichtsmaßregeln mit demselben negativen Erfolge. Nur ein einziges Mal zeigte sich eine deutliche Verdickung eines Karpells, welche sich jedoch bei mikroskopischer Untersuchung nur als eine Anschwellung des Nucellusgewebes herausstellte.

An morphologische Eigentümlichkeiten könnte man in erster Linie denken, welche dem Eindringen des Pollenschlauches und der Befruchtung hinderlich sein würden, jedoch stellte sich gerade heraus, daß die Narbe reichlich Papillen besitzt, an denen die Pollenkörner gut haften, sogar auf den Mikrotomschnitten konnte man sie zwischen ihnen liegen sehen. Außerdem besitzt jedes Karpell einen Gang, welcher es bis zur Narbe hinauf durchzieht, sodaß dem Pollenschlauche ein bequemer Weg zu den Samenanlagen zur Verfügung stände. Immer konnte man diese Höhlung verfolgen, nirgends zeigte sie eine Spur von Verwachsung oder eine Schließung ihrer Öffnung, wodurch dem Wachstum des Pollenschlauches Einhalt geschehen könnte.

Dagegen waren die Pollenkörner auf der Narbe nicht gekeimt, nur in einigen wenigen Fällen zeigte sich nach vielen Tagen eine Spur eines Pollenschlauches, der jedoch das Pollenkorn kaum an Länge übertraf und sein Wachstum bald eingestellt hatte. Die Schuld konnte, da mechanische Hindernisse ausgeschlossen waren, nur an der Pollenentwicklung liegen. Bei der Untersuchung ergab sich folgendes: Es entstehen in dem sporogenen Gewebe der Anthere eine ganze Reihe von Pollenmutterzellen, welche ganz regelmäßig, wie durch Chromosomenzählen[1]) festgestellt wurde, die Reduktions- und Tetradenteilung eingehen. Die vier enstehenden Pollen umgeben sich mit Membranen. Dann aber bricht die Entwicklung meistenteils aus ganz unerklärlichem Grunde ab. Der Pollenkern, welcher sich bei Cabomba aquatica noch bei ungeöffneter Anthere weiter teilt, sodaß zwei Kerne resultieren, unterläßt bei Cabomba caroliniana diesen Teilungsschritt, holt ihn auch in späterem Stadium nicht nach und schneidet sich damit die Aussicht auf eine weitere Entwicklung ab. Nur in seltenen Fällen wurden auch zwei Kerne im Pollen gefunden. So ist es auch

[1]) Diploide Chromosomenzahl 24, haploide Chromosomenzahl 12.

erklärlich, daß die Blüte, nachdem sie längere Zeit geöffnet gewesen ist, wieder unter Wasser sinkt, ohne daß die Antheren zum Entlassen des Pollens aufgesprungen sind. So ist zum Teil schon in diesen Umständen der Grund für das Mißlingen der Befruchtungsversuche zu finden.

Bei weitem ungleichmäßigere Verhältnisse fanden sich in der Ausbildung und dem endgültigen Bau des Embryosackes vor. Eine Beobachtung über den Embryosack und seine Entstehung liegt vor in Raciborskis (22) Arbeit für Cabomba aquatica, Cook (6) behandelt summarisch mit andern Nymphaeaceen zusammen auch Cabomba pihauiensis. Für Cabomba caroliniana kommt in der Literatur nur eine Notiz in Raciborskis oben zitierter Arbeit in Betracht.

Die Untersuchungen ergaben noch eine Reihe von anderen Resultaten, vorerst die normale Entwicklung des Embryosackes: Schon früh zeigen sich in der Höhlung des Fruchtblattes flache Höcker (Fig. 1)[1], unter deren Epidermis eine Zelle deutlich durch Größe und dichten Plasmainhalt, wie durch Mächtigkeit ihres Kernes leicht festzustellen ist: die junge Archesporanlage. Diese kleinen Erhebungen wölben sich weiter vor, neigen sich dem Blütenboden zu, während zugleich die Höhlung des Karpells größer und größer wird. Die Krümmung, welche die Samenanlage zu einer anatropen macht, wird lediglich durch eine Streckung ihrer äußeren Seite bewirkt und beginnt zu der Zeit, wo die Integumente sich aus dem meristematischen Zustande des Gewebes herauszusondern anfangen und ihr Entstehungsort gerade an ihren Initialzellen erkannt werden kann. Dann schneidet die hypodermale Zelle eine Schwesterzelle nach außen hin ab (Fig. 2), die Tapetalzelle, welche sich durch Teilung schließlich auf sechs bis acht ihrer Art vermehren kann. Die junge Embryosackmutterzelle vergrößert sich auf Kosten der umliegenden Nucelluszellen (Fig. 3), die Schichtzellen bleiben unverletzt. Während dieser Zeit ist die Anlage vollständig anatrop geworden, die zweischichtigen, doppelten Integumente haben sich über dem Nucellus

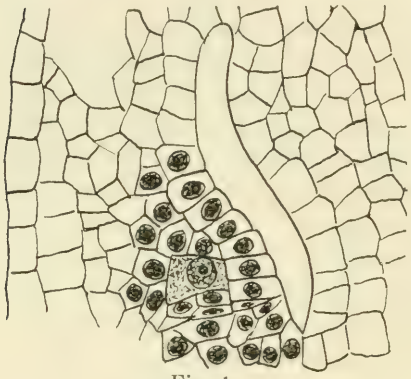


Fig. 1.
Cabomba caroliniana.
Karpell mit jungem Archespor.
Vergr. 450.

[1]) Alle Figuren sind der Lage der Organe im Karpell entsprechend gleichmäßig orientiert, der Blütengrund ist dem Beobachter zu-, die Narbe ihm abgewandt. Die Figuren sind der als Beobachtungsvergrößerung angegebenen Zahl gegenüber auf $^4/_5$ verkleinert.

fast geschlossen und stehen kurz vor dem Abschluß ihres Wachstums. Nun erst tritt die Reduktion des diploiden Kernes in der Embryosackmutterzelle ein. Diese zeigt von der sonst bei Embryosackentwicklungen auftretenden, als Typus zu bezeichnenden Reduktions- und Tetradenteilung, mannigfache interessante Abweichungen. Nur in wenigen Fällen treten, dem Normaltypus ensprechend, vier hintereinander liegende Makrosporen auf (Fig. 4), meistenteils geht die Teilung so vor sich, daß zwei Makrosporen in der Achse der Anlage und zwei senkrecht zu ihr ausgebildet werden (Fig. 5)[1]), sodaß es

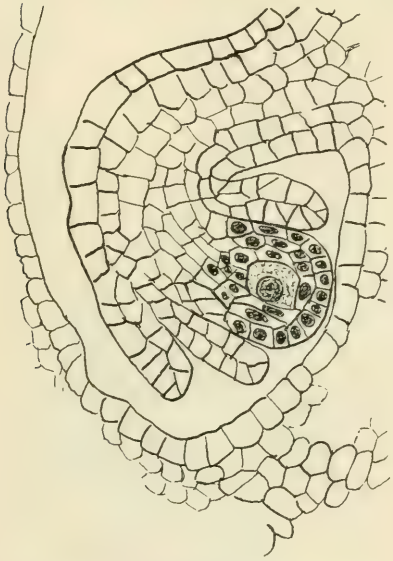


Fig. 2.
Cabomba caroliniana. Samenanlage — Embryosack-Mutterzelle. Vergr. 400.

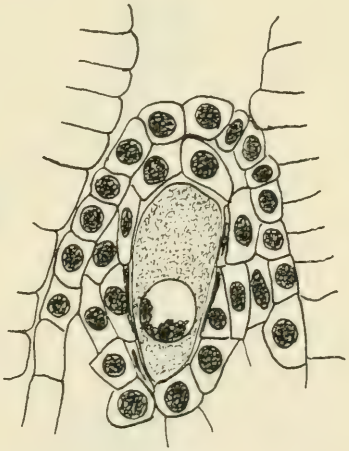


Fig. 3.
Cabomba caroliniana. Synapsis, Verdrängung des Nucellus durch die Mutterzelle. Vergr. 500.

beim eintretenden Ruhezustande der Kerne in bestimmter Schnittlage wirklich den Anschein hat, als würden nur ihrer drei angelegt, wie es auch Raciborski und Cook angeben, besonders da die Tetradenbildung im Stadium der homöotypischen Teilung nicht immer gleichzeitig vor sich geht. Jedoch läßt sich regelmäßig in den benachbarten Schnitten ein vierter Kern nachweisen, was um so leichter ist, als die Kerne, an und für sich schon groß, sich durch den Bau ihres Plasmagerüstes leicht erkennbar aus der Menge der vegetativen Nucelluskerne hervorheben.

Bei der nun eintretenden Verdrängung der funktionslosen Tetradenzellen haben in vielen Fällen zwei der Makrosporen das Bestreben,

[1]) Diese Form der Tetradenbildung ist im weiteren als T-Form bezeichnet.

sich zum Embryosacke auszubilden. (Fig. 4.) Das geht sogar so weit, daß in den einzelnen Makrosporenzellen schon Teilungen der reduzierten Kerne vor sich gehen (Fig. 4), obwohl noch keiner der Konkurrenten den andern ganz verdrängt hat. Schließlich erreicht jedoch nur eine Makrospore, meistenteils die unterste, das Ziel (Fig. 6), auch in dem Falle, daß in der oberen schon die Keimung vor sich gegangen ist (Fig. 4). Es ist interessant, daß ähnliche Zustände auch bei dem den Cabombeen nahestehenden Nelumbium von H. York (34) festgestellt sind.

Der primäre Embryosackkern teilt sich am oberen Ende des Embryosackes in charakteristischer Lage weiter (Fig. 7), sodaß schließ-

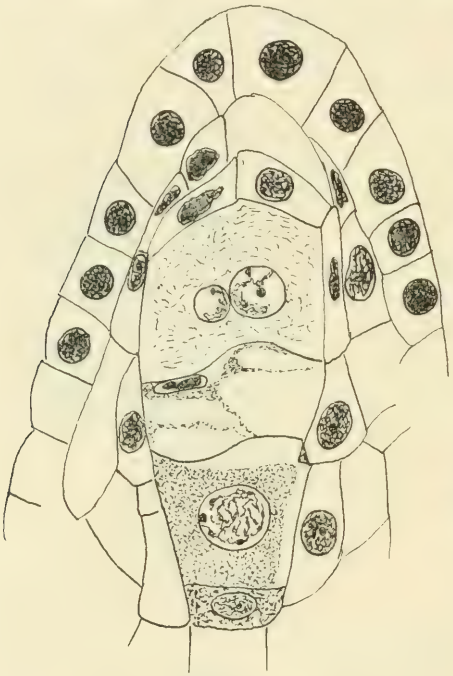


Fig. 4.
Cabomba caroliniana.
Vier Makrosporen, unterste und mittelste vor Resorption, in der oberen schon Keimung, vorletzte kurz vor diesem Stadium. Vergr. 1000.

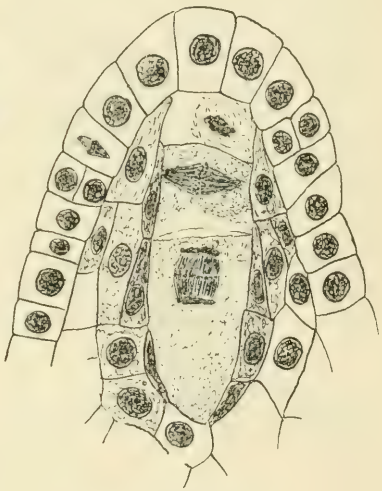


Fig. 5.
Cabomba caroliniana.
Bildung der Reduktionstetrade.
Vergr. 500.

lich dort vier Kerne vorhanden sind, von denen sich einer mit dem entsprechenden Kerne aus der Antipodenregion zum sekundären Embryosackkerne zusammenschließt. Die die Zellbildung abschließende Umwandung des Eies und der Synergiden tritt erst nach der Verschmelzung der Polkerne ein, oft unterbleibt sie überhaupt.

Der Antipodenapparat bleibt nur in den allerseltensten Fällen völlig erhalten, er degeneriert sehr schnell oder wird von dem umgebenden Plasma resorbiert, sodaß man in ganz seltenen Fällen

Antipodenkerne, meistenteils nur zwei oder drei als Reste der Antipodengruppe sich kennzeichnende, stark färbbare Plasmaklumpen am unteren Ende des Embryosackes erkennen kann, Zellwände um die Antipodenkerne sind niemals beobachtet worden.

Ganz selten kommen jedoch regelmäßig gebaute Embryosäcke zur Ausbildung. Eine Blüte kann fertig entwickelt sein, sie kann sogar blühen und die im Jugendzustande eng aneinander anliegenden Fruchtblätter entfaltet haben, und doch findet man, daß die Entwicklung des Embryosackes mit der der Blüte keinen Schritt gehalten hat, sondern weit dahinter zurückgeblieben ist. Garnicht selten macht

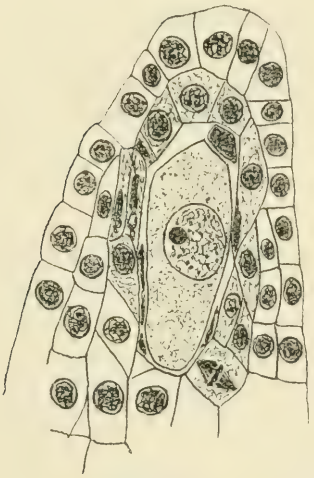


Fig. 6.
Cabomba caroliniana.
Junger Embryosack, die letzte gleichwertige Makrospore und einen Teil des Nucellus verdrängend. Vergr. 500.

Fig. 7.
Cabomba caroliniana.
Teilung des primären Embryosackkernes.
Vergr. 900.

man die Beobachtung, daß in nach Größe und Wachstum vollkommen ausgebildeten Samenanlagen die Embryosackmutterzelle überhaupt nicht zur weiteren Entwicklung gekommen ist, ja oft nicht einmal den ersten Teilungsschritt, die Abgabe der Parietalzelle, unternommen hat. Ihr Kern hebt sich durch seine Dicke unverkennbar von den übrigen vegetativen Kernen des Nucellus ab, liegt in einer an Größe und Plasmareichtum wohl ausgestatteten, deutlich hervortretenden Zelle und ist doch nicht weiterentwickelt. Die Ursache für diese Erscheinung ist nicht einzusehen. Anderseits findet man auch im Embryosacke einer reifen Samenanlage erst den primären Kern nicht fortentwickelt. (Die betreffenden Blüten waren bereits geöffnet, z. T. sogar schon im Abblühen begriffen.)

Andere Unregelmäßigkeiten sind solche, die man unter der Bezeichnung „Schrumpfungen“ zusammenfassen kann: der Nucellus ist von der Integumentenhülle, an der er sonst fest anliegt, abgehoben — einer Zellplasmolyse ähnlich — und zeigt, ebenso wie der Embryosack, Merkmale einer beginnenden Desorganisation. Nicht nur, daß die Lage der Kerne im Embryosacke eine wesentlich veränderte ist, daß der Eikern z. B. in den seltensten Fällen eine tiefere Lage einnimmt als seine beiden Synergiden, auch die Struktur der Sexualkerne gibt ihre Unfähigkeit, die Befruchtung zu vermitteln, deutlich zu erkennen. Das Plasma zeigt keinerlei Differenzierung mehr, ist auseinander gerissen, liegt in Fetzen in der Höhlung des Embryosackes, ist oft auch in einen Klumpen zusammengeballt, außerdem nimmt es auch eine Färbung an, welche es deutlich von gesundem Plasma unterscheiden läßt (Fig. 8).

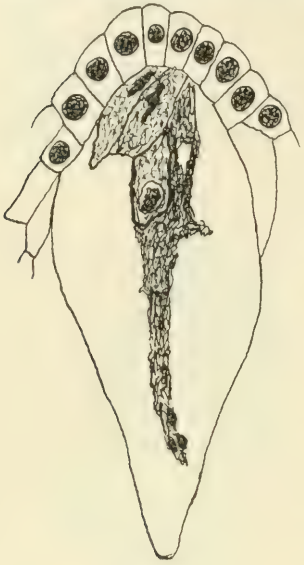


Fig. 8.
Cabomba caroliniana.
Degenerierender Embryosack.
Vergr. ca. 300.

Die letzten Beobachtungen sind nicht auf schlechte Fixierung des Materials zurückzuführen oder auf unregelmäßige Färbung der Schnitte. Schon der Umstand, daß normale und geschrumpfte Embryosäcke in demselben Karpell lagen, schließt die Möglichkeit einer unzureichenden Fixierung aus, anderseits wurden alle die Blüten unberücksichtigt gelassen, an denen sich nicht mehr durch Vergleich der mit der gleichen Lösung zur selben Zeit fixierten Blüten die Wirkung des Flemminggemisches unzweifelhaft feststellen ließ.

Es erhellt jedenfalls aus den Beobachtungen, daß ein Befruchtungsversuch mit derartig unentwickelten Pollen und in ihrer großen Mehrzahl degenerierenden Embryosäcken von vornherein scheitern mußte. Cabomba caroliniana ist eben vollkommen apogam geworden, sie setzt alle ihre Kraft zur Erhaltung der Art in die vegetative Propagation. Dafür spricht auch neben dem Verkümmern des Sexualapparates die Reduktion der Tragblätter aus kreisrunden, schildförmigen, wie bei Cabomba aquatica und Brasenia, zu kleinen pfeilförmigen oder länglichen Gebilden. Mögen Tragblätter nur dazu dienen, die Blüte über Wasser zu halten, oder dazu, den Transspirationsstrom für die Blüte zu erhöhen, immerhin spricht auch die Reduktion dieses Nebenorganes der Blüte dafür, daß die Pflanze, auf sexuelle Fortpflanzung verzichtend, sich nur noch vegetativ vermehrt.

Daß sich Cabomba caroliniana nur hier unter den günstigen Bedingungen eines Viktoriahauses in der geschilderten Weise entwickelt, im Mutterlande aber fruktifikationsfähig ist, diese immerhin bestehende Möglichkeit halte ich in diesem Falle für ausgeschlossen. Die kleinen reduzierten Tragblätter werden auch für die Pflanzen aus dem Mutterlande beschrieben, außerdem hat Raciborski festgestellt, daß sich die in Häusern kultivierten in nichts von den im Freiland lebenden Individuen unterscheiden.

Ein anderer Vorgang, welcher die Entwicklung des Sexualapparates besonders interessant macht, ist die Ausbildung mehrerer gleichwertiger Embryosäcke. Diese Erscheinung deckt sich keinesfalls mit der anderen schon beschriebenen, wo nach der Reduktion der Embryosackmutterzelle zwei von den Makrosporen nach Verdrängung ihrer Schwesterzellen noch lange Zeit ihre Gleichwertigkeit bewahren, wo jede Kernteilungen eingehen kann, bis doch schließlich nur eine der beiden Rivalinnen durch stetige Zellvergrößerung und Anreicherung von Plasmamasse es erreicht, die schwächere zu unterdrücken und sich selbst zum Embryosacke auszubilden. DieEntwicklung mehrerer Embryosäcke nebeneinander zeigt schon in den jüngsten Stadien der Samenanlagenausbildung ihre Anfänge. Zwar zu der Zeit, wo die Archesporzelle noch mitten im Gewebe des Karpelles liegt (Fig. 1), ist von verschiedenen Embryosäcken noch nichts zu sehen, höchstens, daß ein Archespor größer ist als ein anderes gleichen Alters; erst, wenn die jungen Samenanlagen ein Stück in die Höhlung des Karpells hineinragen, tritt die Bildung mehrerer Embryosackanlagen auf: die primäre Archesporzelle teilt sich transversal. So können durch stetige transversale Teilung zwei, drei, schließlich vier Archespore entstehen (Fig. 9), eine höhere Anzahl ist nicht beobachtet worden. Die Teilungen der Archesporkerne zeichnen sich durch die größere Chromatinmasse aus und sind mit vegetativen Teilungen im nebenliegenden Gewebe unmöglich zu verwechseln. (Man vergleiche in Fig. 9 die Spindel des Archesporkernes mit der vegetativen, rechts oben liegenden.) Die entstehenden Archesporzellen geben ganz regelmäßig Schichtzellen ab und wachsen tief in das Gewebe des Nucellus hinein. Man konnte überhaupt regelmäßig die Beobachtung machen, daß die in Mehrzahl ausgebildeten Embryosäcke oder ihre Mutterzellen größer waren als die einfachen Embryosäcke. (Zum Vergleich Fig. 3 und 10, Fig. 5 und 11 b.) Ich führe dies auf eine Einwirkung der Ernährungsverhältnisse zurück. Dort, wo zwei Embryosackanlagen sich in die von der Chalaza kommenden Nährstoffe teilen müssen, wird jede möglichst nahe an die Nährstoffquelle zu gelangen suchen, oder vielleicht durch ein Vorbeiwachsen an der Nebenanlage dieser die Hauptmasse ihrer Nahrung abzuschneiden und sie dadurch nicht nur im Längenwachstum, sondern

auch in ihrer Nahrungsaufnahme zu übervorteilen suchen. So ist vielleicht aus diesem Kampfe um die Nährstoffe die mächtige Ausbildung der mehrfachen Embryosäcke zu erklären. So konnte ich auch häufig

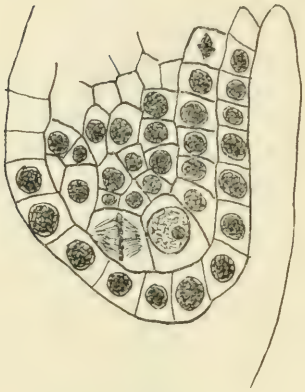


Fig. 9.
Cabomba caroliniana.
Bildung der mehrfachen Archespore.
Vergr. 500.

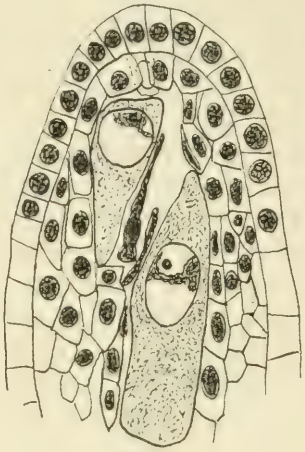


Fig. 10.
Cabomba caroliniana.
Vier Embryosackmutterzellen, zwei kurz vor Reduktionsteilung, d. beidenmittleren zerdrückt.
Vergr. 500.

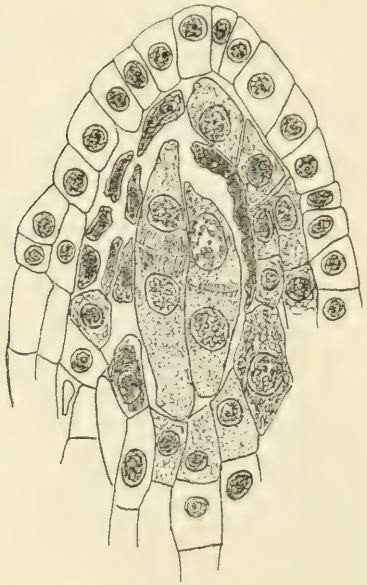


Fig. 11a.
Cabomba caroliniana.
Tetradenbildung bei doppelten Embryosäcken, oberer Schnitt. Rechts noch ein zerdrückter Embryosack. Vergr. 500.

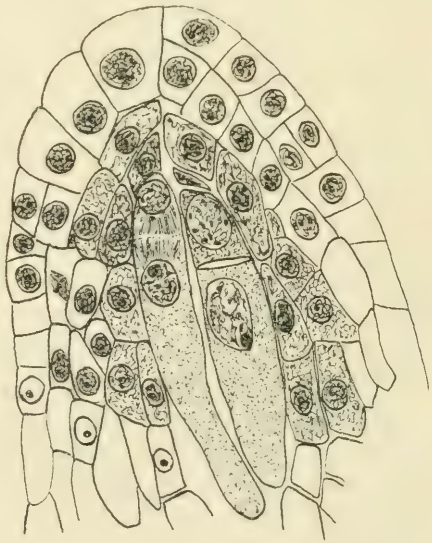


Fig. 11b.
Cabomba caroliniana.
Tetradenbildung bei doppelten Embryosäcken, unterer Schnitt.
Vergr. 500.

die Beobachtung machen, daß ein Embryosack den andern überholt hatte und mit seinem untern Ende direkt vor dem zweiten Embryosacke lag (Fig. 10). Der Kern und das Plasma des in der Entwicklung zurückgebliebenen Embryosackes zeigten deutliche Anzeichen des Verfalls. So kommt es auch, daß von vier Embryosäcken nicht immer einer von denen, welcher am meisten in der Mittellinie der Samenanlage liegt, also am meisten prädestiniert erscheint, schließlich zum Embryosacke wird, sondern derjenige, welcher sich am tiefsten in das Nucellusgewebe einbohren und durch stetige Verdrängung der Nucelluszellen sich in Besitz des Hauptstromes der Nahrungszufuhr setzen kann. (Fig. 10 und 11 b scheinen mir das anschaulich zu erläutern.) Zur selben Zeit, wie bei einfachen Embryosäcken, tritt auch bei den doppelten die Reduktion in der Mutterzelle ein, ein lang andauerndes Stadium der Synapsis ist das sicherste Kriterium dafür. Eine heterotypische Teilung war mir leider nicht möglich zu beobachten, jedoch hatte ich das Glück, das Tetradenstadium zu verfolgen, aus dem sich auf die heterotypische Teilung Schlüsse ziehen lassen. Die vier Makrosporen jeder Anlage liegen paarweise über einander und bilden eine Tetrade, die der bei Reduktion der Pollenmutterzellen vorkommenden ungemein ähnlich sieht. Man muß sich Fig. 11 a auf Fig. 11 b gelegt denken, um ein richtiges Bild der Tetraden in beiden Embryosäcken zu bekommen. Zu Embryosäcken werden wohl die in beiden Anlagen im unteren Schnitte (Fig. 11 b) am tiefsten liegenden Makrosporen heranreifen. Ob das gemeinsame Wachstum beider Anlagen noch lange anhalten wird, scheint fraglich zu sein, da die linke an der rechten vorbeizuwachsen droht. Mehrfache Embryosäcke in älteren Stadien konnte ich dann nur noch einmal beobachten (Fig. 12); dort befinden sich die beiden rechten im Stadium des primären Embryosackkernes, welcher sich zum ersten Male teilt. Ob die beiden in der Zeichnung links liegenden Anlagen überhaupt reduziert sind, läßt sich nicht feststellen. Nach dem Stadium des primären Embryosackkernes geht die bisher gleichmäßig gebliebene Entwicklung der Anlagen zurück, ist dies ein-

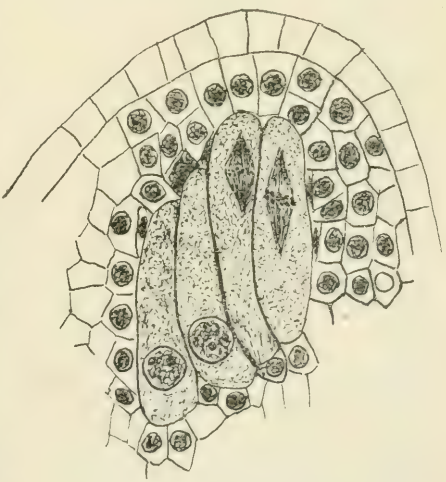


Fig. 12.
Cabomba caroliniana.
Vier Embryosäcke, die beiden rechten während der Teilung des primären Embryosackkernes.
Verg. 500.

mal eingetreten, so gelingt es schließlich doch einem Embryosacke, alle andern zu verdrängen. Fertig ausgebildete Embryosäcke in Mehrzahl in einer Samenanlage festzustellen, war nicht möglich, häufig sah man neben dem Embryosacke seiner Länge nach gleiche, mit Plasma fest angefüllte Zellen liegen: die dem funktionierenden unterlegenen Nebenembryosäcke (Fig. 10 u. 11a).

Neben den mehrfachen Embryosäcken tritt in manchen Fällen noch eine andere Vermehrung der Archespore, durch eine longitudinale Teilung des primären Archespors, auf. Jedoch ist diese Erscheinung seltener als die der mehrfachen Embryosäcke, hat auch sicherlich nicht diese Bedeutung. Denn wo zwei Archespore hintereinander liegen, ist das Schicksal des einen, welches vor dem andern gelegen ist, bald besiegelt, es wird schnell dem Wachstum des unteren, der Chalaza näher liegenden Archespors zum Opfer fallen.

Cabomba aquatica.

Zur Bearbeitung hatte mir Herr Prof. Goebel Material zur Verfügung gestellt. Es ist offenbar dasselbe, was auch Raciborskis Arbeit über Cabomba aquatica zugrunde gelegen hat.

Über die Entwicklung des Embryosackes bei dieser anderen Cabomba-Species ist folgendes zu sagen: Es bestehen in Form und Bau der Samenanlage keine Unterschiede zu Cabomba caroliniana, dieselbe Entwicklung bringt aus dem Archespor die Embryosackmutterzelle hervor, welche nach der gleichen Reduktionsform wie bei Cabomba caroliniana einen Embryosack liefert. In dem einen vollständigen Embryosacke, den ich fand, waren der Eiapparat, der Embryosackkern und die Synergiden in regelmäßiger Zahl vorhanden. Auch die Abweichungen von der Norm, welche Raciborski nicht beschreibt, zeigt Cabomba aquatica: Zwei Makrosporen suchen ihre Gleichwertigkeit zu erhalten; ebenso fand ich zwei Archesporzellen nebeneinander und auch zwei, welche hintereinander angeordnet waren. Daß ich nicht doppelte Embryosäcke beobachten konnte, lag an der geringen Anzahl der Blüten, die mir zur Verfügung standen — es waren ungefähr zehn — jedoch befanden sie sich in den verschiedensten Entwicklungsstufen, so daß die Hauptpunkte, die für die Ausbildung einer Samenanlage von Wichtigkeit sind, glücklicherweise gefunden werden konnten. Bei der sonst völligen Übereinstimmung mit Cabomba caroliniana habe ich auch keinen Zweifel, daß die Entwicklung der doppelten Embryosäcke genau so vor sich geht, wie bei Cabomba caroliniana.

Ein Hauptunterschied zwischen den beiden Spezies trat an zwei Samenanlagen klar zutage: die Fruktifikationsfähigkeit, welche gegenüber dem Befund bei Cabomba caroliniana bei Cabomba aquatica in

die Erscheinung tritt. Der junge Embryo, den Fig. 13 zeigt, ist nicht parthenogenetisch oder apogam entstanden, was man nach den Ergebnissen bei Cabomba caroliniana annehmen könnte, der Pollenschlauch (p) war noch erhalten (auch in dem zweiten Falle, wo ein Embryo gefunden wurde) und war durch die Mikropyle hindurch bis zu seinem Ende an der Eiregion etwa leicht zu verfolgen.

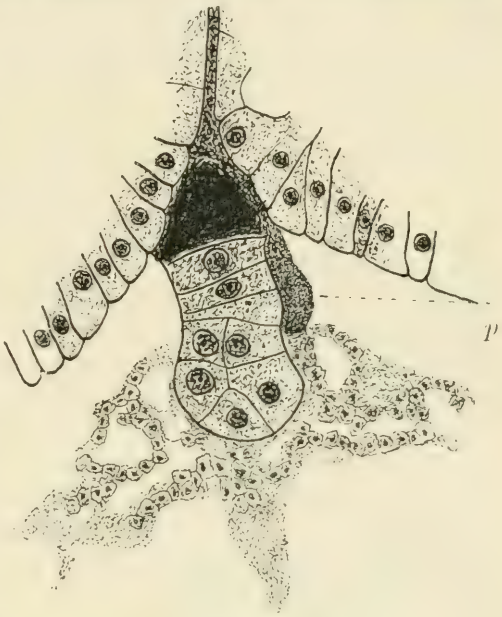


Fig. 13.
Cabomba aquatica.
Embryo. p = Pollenschlauch.
Vergr. 500.

Es zeigten sich bei Cabomba aquatica ein normaler Embryosack, keine Reduktion oder Schrumpfungen einzelner Teile, ebenso zeigten sich normale Pollen mit zwei Kernen.

Durch die Tatsache der vollzogenen Befruchtung ist anderseits der Beweis erbracht, daß die längere Gleichwertigkeit zweier Makrosporen, wie sie bei beiden Cabombaarten auftritt, ebenso die Ausbildung mehrerer Embryosäcke keine Hinderungsgründe für die Befruchtung sind.

Lehrreich wäre es, Cabomba aquatica auf die weitere Entwicklung der doppelten Embryosäcke hin zu untersuchen. Bei der Fruktifikationsfähigkeit dieser Spezies wäre es nicht ausgeschlossen, daß in einzelnen Fällen auch zwei Embryosäcke befruchtet würden.

Brasenia purpurea.

Das Material war mir aus dem Botanischen Garten zu Dahlem zur Verfügung gestellt. Über die Embryologie von Brasenia kann man sich kurz fassen, sie gleicht, wie schon Raciborski angegeben hat, genau der von Cabomba. Die zahlreichen freien Karpelle sind noch azyklisch angeordnet und enthalten je zwei Samenanlagen, welche man nach ihrem Bau leicht mit denen der Cabomba verwechseln kann, nur hat das äußere Integument nicht nur zwei, wie Cabomba, sondern drei, am oberen Ende sogar vier Zellschichten. Im übrigen geht die Entwicklung der Samenanlage genau so vor sich, wie bei Cabomba, auch die des Embryosackes zeigt keinerlei Abweichungen: Archespor

hypodermal, Abgabe einer Schichtzelle, langdauerndes Synapsisstadium, Reduktionstetrade in T-Form, Verdrängung der Schwesterzellen, alles gleicht, auch in seinen Unregelmäßigkeiten, der Cabomba. Mehrfache Embryosäcke treten mit derselben Häufigkeit und in derselben Lage auf, wie sie für Cabomba charakteristisch ist.

Butomeen.

Limnocharis emarginata.

Es stand mir Material von Limnocharis emarginata in reichlicher Menge, Blüten von allen Stadien und Größen zur Untersuchung zur Verfügung. Fixiert waren sie, soweit es sich noch feststellen ließ, mit Alkohol unter Zusatz von Essigsäure. Gerade für dieses Material eignete sich die Hämatoxylin-Eosinfärbung vorzüglich, sie gab klare Bilder von Kern- und Plasmastruktur. Als Stärke der Mikrotomschnitte erwies sich auch hier für jüngere Blüten 10 μ, für ältere, etwa vom Zweikernstadium im Embryosack ab, 15 μ als beste. Über Schnittrichtung und -orientierung lassen sich keine bestimmten Angaben machen, auf Längsschnitten hat man bei der großen Anzahl der Samenanlagen in den zahlreichen, dicht zusammengedrängten Karpellen gute Aussicht, eine ganze Reihe in der Mediane zu treffen.

Leider fand ich Buchenaus (4) Angabe: Die Samenanlagen entwickeln sich in den Karpellen von unten fortschreitend nach oben, in keinem Falle bestätigt. Im Gegenteil: Alle Samenanlagen des Fruchtknotens standen mit ganz geringen Schwankungen auf der gleichen Entwicklungsstufe. Auch bei anderen Pflanzen habe ich dieselbe Beobachtung machen können, bei Alisma und Echinodorus ging die Übereinstimmung oft so weit, daß z. B. alle Anlagen im Synapsisstadium sich befanden, ein andermal alle die Teilung des primären Kernes im Embryosacke als Kernplatte zeigten. Schließlich hat ja auch die Pflanze ein Interesse daran, daß bei einer erfolgenden Bestäubung alle Samenanlagen in gleicher Weise befruchtungsfähig sind, besonders, wenn die Blüten, wie bei der untersuchten Pflanzengattung, nur kurze Zeit geöffnet sind.

Die jungen Samenanlagen entstehen in großer Zahl als kleine, aus der Karpellwand sich heraushebende Höcker, welche schon in ihren jüngsten Stadien als Abschluß einer axialen Zellreihe das Archespor erkennen lassen. Nicht selten tritt ein sporogenes Gewebe von zwei, sogar drei bis vier Zellen auf, welches seinen Ursprung der einen ursprünglichen Archesporzelle verdankt, wenn diese nach Vergrößerung ihres Kernes und Anreicherung von Cytoplasma erstarkt, teilungsfähig geworden ist. Schon früh, etwa zu der Zeit, wo die

Initialzellen der Integumente kenntlich werden, gibt das Archespor eine Schichtzelle ab, die sich wenig, nur zu einer einschichtigen, die Embryosackmutterzelle bedeckenden Zellage vermehrt. Bald tritt eine Biegung der Anlage nach der Spitze des Karpelles hin auf, bis mit der Ausbildung der Embryosackmutterzelle die Anlage etwa anatrop geworden ist, wenn sie auch ihre endgültige Lage, so, daß die dem Funikulus abgewandte Seite der Karpellwand anliegt und die Mikropyle der Narbe abgewandt ist, erst erreicht, wenn der Embryosack seiner endgültigen Ausbildung nahe ist.

Die Embryosackmutterzelle hat sich während der Krümmung der Anlage um ein wesentliches vergrößert, ebenso hat der Kern eine unverkennbare Zunahme an Kernsubstanz erfahren, wenn er sich zur Reduktionsteilung anschickt, welche nicht auf eine Tedrade von vier hintereinander liegenden Makrosporen hinausläuft. Die heterotypische Teilung geht normal vor sich, es resultieren zwei Kerne, die in der Längsachse der Anlage liegen. Während nun der untere Kern bei dem homöotypischen Teilungsschritte die eingeschlagene Richtung beibehält, geht die Anordnung der dem oberen Kerne entspringenden Teilungsprodukte senkrecht zur Längsachse der Anlage vor sich: die Makrosporentetrade hat die Ansicht eines „T“. Man erkennt leicht in Fig. 14 die beiden unteren reduzierten Kerne, die noch durch Plasmafäden verbunden sind, und den oberen Kern im Stadium der Äquatorialplatte. Die Funktion des Embryosackes übernimmt die mittelste Zelle, nachdem sie die untere und die beiden oberen verdrängt hat; stark färbbare Kappen sind noch längere Zeit an der Spitze des Embryosackes wahrzunehmen: Die Reste der funktionslos gewordenen Makrosporen. Um dieselbe Zeit erfolgt auch die Resorption der Schichtzellen, jedoch nicht mit gesetzlicher Regelmäßigkeit, sie wurden noch in späteren Entwicklungsstadien in unversehrtem Zustande gefunden, sogar noch zu der Zeit, wo drei oder vier Kerne im Embryosacke vorhanden sind. Der nach Verdrängung der Schwesterzellen und ihrer Kerne übrigbleibende primäre Kern wandert dem Scheitel des jungen Embryosackes zu, um dort den ersten Teilungsschritt zu vollziehen. Auch bei diesem Prozeß läßt sich keine Einheitlichkeit feststellen, bald geschieht die Teilung in transversaler, bald in longitudinaler Richtung, meistenteils in keiner von beiden, sondern so, daß die Teilungs-

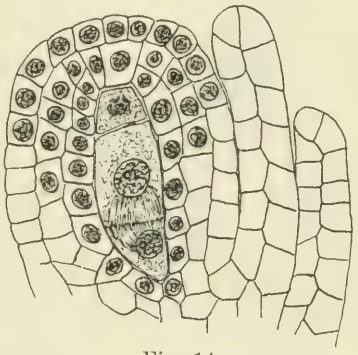


Fig. 14.
Limnocharis emarginata.
Embryosack-Mutterzelle, Tetradenteilung. Vergr. 500.

richtung etwa einen Winkel von 45° mit der Längsachse des Embryosackes bildet. (cf. für Cabomba Fig. 7.) Die beiden entstehenden Kerne ordnen sich an den beiden Enden des Embryosackes an, zwischen ihnen entsteht, während das Plasma früher fast die ganze Höhlung des Embryosackes ausfüllte, eine große Vakuole. Bei der nun folgenden endgültigen Ausbildung des Embryosackes treten besonders im Verhalten der Antipoden mannigfaltig wechselnde Verhältnisse auf. In den meisten Embryosäcken wurde beobachtet, daß der obere Kern sich teilte, während der untere im Ruhezustande verharrt, nur in seltenen Fällen geschehen die Teilungen synonym. Die Teilungsrichtung ist auch nicht in allen Fällen einheitlich, longitudinal ist ebenso häufig anzutreffen wie transversal. Jedenfalls treten schließlich am oberen Ende des Embryosackes vier Kerne auf, drei von ihnen schließen sich mit Wänden gegeneinander ab und bilden den Eiapparat, der Eikern hebt sich durch Größe und sein lockeres Plasmagerüst vor den dichten Synergiden und dem oberen Polkerne ab. In diesem Stadium hat sich auch immer der Antipodenkern geteilt, meistens spärlich, sodaß schließlich nur ein oder zwei Antipoden resultieren, selten so, daß der empfängnisreife Embryosack im Besitz der Vollzahl von Antipoden ist. Zwei Kerne entstehen aber stets am Antipodenende, von denen einer sich dem aus der Eiregion sich entfernenden oberen Polkerne nähert (Fig. 15) und mit ihm zum sekundären Embryosackkerne verschmilzt, der sich dicht unter die Eizelle legt, öfters aber auch in einer tieferen Region des Embryosackes gefunden wurde.

Fig. 15.
Limnocharis emarginata. Embryosack vor Verschmelzung der Polkerne. Vergr. 500.

Über die Entwicklung des Embryosackes von Limnocharis liegt aus dem Jahre 1902 eine Arbeit von Hall vor (16), welcher jedoch zu ganz anderen Resultaten gekommen ist, die den eben angegebenen vollkommen widerstreiten. Ich kann mich nach allem, was ich an Limnocharis emarginata gesehen habe, keinesfalls den im folgenden kurz wiedergegebenen Ansichten des betreffenden Autors anschließen: „Die Ovula stehen denen von Butomus umbellatus nahe. Sie entstehen als Vorsprünge an den Wänden der Karpelle ohne bestimmte Plazentation und zeigen in ihrer Entwicklung den üblichen Angiospermentyp mit Ausnahme der Entwicklung des Embryosackes.

„Früh ist eine hypodermale Zelle zu erkennen, welche das Archespor bildet und sich in ihrer Größe und der ihres Kernes von

den umliegenden unterscheidet. Es wird eine Tapetenzelle abgeschnitten, diese besitzt keine Wand, sie wird gegen die Spitze des Embryosackes gedrängt und verschwindet im Laufe der weiteren Entwicklung. Die übrigbleibende große Zelle wird zum Embryosacke ohne Teilung. Um die Zeit der ersten Teilung im Embryosacke findet eine Teilung der epidermalen Zelle durch eine perikline Wand statt, so kommt es zur Bildung einer unechten Tapetalzelle (false tapetal cell). Bei Butomus geht die Entwicklung genau so vor sich: zwei Zellen sind vorhanden, welche nacheinander von der Archesporzelle abgeschnitten werden, mitunter teilt sich die eine nochmals longitudinal. Diese drei Zellen haben sehr unbeständige Wände und verschwinden bald.

„Die Geschichte der Kernveränderungen im Embryosacke unterscheidet sich in den letzten Stadien beträchtlich von der gewöhnlichen. Nach der ersten Teilung des Makrosporenkernes wandern die Tochterkerne nach beiden Enden des Embryosackes. Der erste, sich zur Mikropyle wendend, macht gewöhnlich Teilungen durch, um Eiapparat und oberen Polkern zu bilden, während der Kern am Antipodalende ungeteilt bleibt. Der sekundäre Kern am Mikropylarende teilt sich transversal, dann jeder der entstehenden Kerne longitudinal, aber nicht immer gleichzeitig. Die unteren Kerne werden Ei- und Polkern, die andern beiden Synergiden. Der obere Polkern wandert, sich stetig vergrößernd, zum Antipodenende, sodaß er aussieht wie der Endospermkern. Diese Wanderung geschieht so weit, bis er die Region der Antipoden erreicht hat. Es tritt keine Verschmelzung ein, sondern es teilt sich der obere Polkern transversal, der untere Tochterkern bleibt in der Lage und trennt sich mit einer Wand gegen den Embryosack ab. Es wird eine große Zelle gebildet, die sich nicht weiter teilt und mit dem Wachstum des Endosperms schwindet. Der obere Tochterkern wandert rückwärts zum Eiapparat und bildet weiter das Endosperm."

Hierauf ist folgendes zu entgegnen: Die Ovula entstehen nicht, wie Hall angibt, ohne bestimmte Plazentation an den Wänden der Karpelle, sondern es sind, wie schon der auch von Hall zitierte Buchenau festgestellt hat, die Mittellinie und die äußeren Ränder frei von Samenanlagen. Die Tapetenzelle soll keine Wand besitzen; jedenfalls meint der Verfasser mit dieser wandlosen Zelle, welche gegen die Spitze des Embryosackes gedrängt wird und im Laufe der Entwicklung verschwindet, die zugrunde gehenden Makrosporen, welche bei der Reduktion der Embryosack-Mutterzelle entstehen und als Kappe den jungen Embryosack bedecken. Jedoch hat der Autor den Vorgang der Reduktion überhaupt nicht erkannt. Die „unechte Tapetalzelle", welche der Verfasser erwähnt, wird weiter nichts vorstellen, als eine Teilung der Epidermalschicht, eine Erscheinung, die

ich auch gelegentlich beobachten konnte, welche jedoch ohne jede Regelmäßigkeit auftritt und kaum Anspruch auf Beachtung verdient. Jedenfalls ist diese Teilung keinesfalls homolog mit der Erscheinung bei Butomus, wie es Hall hinstellen will. Einmal, bei Limnocharis, wird die fragliche Zelle von der Epidermis abgegeben, bei Butomus auf der andern Seite von dem Archespor. Dort ist es sicherlich nur eine nebensächliche Erscheinung, hier der für die Entwicklung und Ausreifung des Embryosackes höchst wichtige Vorgang der Reduktions- und Tetradenteilung.

Von den eigenartigen Kernveränderungen, die sich nach Hall um ein Bedeutendes von der Norm unterscheiden sollen, habe ich nichts bemerken können. Der obere Kern am Mikropylarende teilt sich bald longitudinal, bald transversal, ohne jede Regelmäßigkeit, ebenso fehlt es nicht, wie schon oben dargelegt, an Teilungen des Kernes, welcher den Antipoden und dem unteren Polkerne den Ursprung gibt. Schließlich habe ich auch in den zahlreichen Präparaten, die ich ausschließlich auf diese Unregelmäßigkeiten hin untersucht habe, niemals eine Teilung des oberen Polkernes konstatieren können, wonach der eine Tochterkern sich zusammen mit dem einzigen Antipodalkerne zu einer besonderen Zelle vom Embryosack abschließen soll. Im Gegenteil lassen sich (Fig. 15) oft genug zwei Polkerne finden, welche sicherlich — ihrer Lage nach zu urteilen — miteinander verschmelzen müssen, um den sekundären Embryosackkern zu bilden. Was Hall als Teilung des Polkernes bezeichnet (Fig. 10 seiner Tafel), möchte ich seiner Zeichnung nach weit eher als Verschmelzung der Plasmamassen der beiden Polkerne ansehen. Ebenso liegen die Kerne des Eiapparates niemals frei in der Plasmamasse, wie Hall angibt und auch zeichnet, sondern sind, der normalen Ausbildung des Angiospermenembryosackes folgend, von deutlichen Zellwänden umgeben (Fig. 15), welche man bei den Antipoden nicht immer festzustellen in der Lage ist. Die Zellwand im Embryosacke wird nach der Teilung des Endospermkernes entstanden sein, wie es ja häufig auch bei Butomus, Nymphaeaceen und vielen andern Pflanzen vorkommt, daß durch die erste Teilung des Endospermkernes der Embryosack in zwei gleiche Teile zerlegt wird. So erklären sich vielleicht auch die vier Kerne im Eiapparat der Zeichnungen Halls: Der Autor hat nicht sich erst entwickelnde, sondern bereits befruchtete Embryosäcke vor sich gehabt. Die Form des reifen Embryosackes ist eine vollkommen gerade, langgestreckte, nicht, wie Hall in seiner Figur 8 zeichnet, eine gebogene. Die hufeisenförmige Gestalt (Fig. 16) nimmt der Embryosack erst nach der Befruchtung an, jedoch ist die Bezeichnung kampylotrop nicht zutreffend, da die Anlage nicht als kampylotrope, sondern rein anatrop entsteht. Der sogenannte

Kampylotropismus ist bei Limnocharis, wie es Buchenau schon für Hydrocleis festgestellt hat, nur durch ein nachträgliches, sehr schnell vor sich gehendes Wachstum der Chalaza bedingt, welche auch den Funikulus zu dieser eigenartigen Krümmung veranlaßt. Der an der Raphe entstehende Zwischenraum wird durch ein lockeres Zellgewebe ausgefüllt. Die Richtigkeit dieser Annahme wird durch den in der Anfangszeit der Entwicklung vollkommen geradlinig, schließlich scharf gebogenen Verlauf des Leitungsgewebes im Funikulus anschaulich bestätigt.

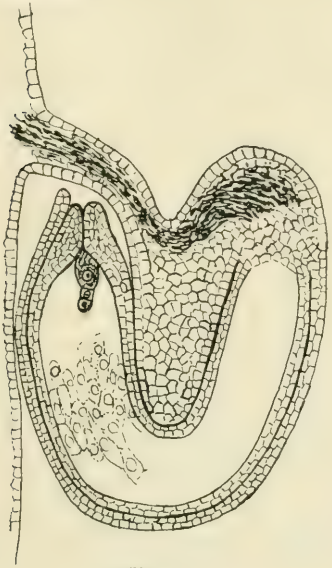


Fig. 16.
Limnocharis emarginata.
Samenanlage mit Embryo.
Vergr. ca. 106.

Fig. 17.
Limnocharis emarginata.
Vier Embryosackanlagen.
Vergr. 500.

Es ist bedauerlich, daß Hall mit keinem Worte der Art seiner Fixierung und der Färbungsmethode Erwähnung tut, vielleicht läßt sich auf diese Art und Weise die vollkommen falsche Darstellung z. B. des Eiapparates erklären; auch die nach Halls Zeichnung (Fig. 3) schon in so jungem Gewebe vorkommende große Zahl von zerdrückten, offenbar degenerierenden Zellen auf nicht ganz frisches Material zurückzuführen, liegt im Bereiche der Möglichkeit.

Entgangen ist Hall eine Beobachtung, welche man garnicht selten machen kann: die Ausbildung mehrerer Embryosäcke in der gleichen Anlage. Häufig trifft man bei jungen Anlagen, welche sich um weniges über ihre Plazenta erheben, zwei, drei, sogar vier Archesporzellen an, die alle bis zu einem gewissen Grade entwicklungsfähig sind. Vier Mutterzellen zu sehen, liegt noch gut im Bereiche der Möglichkeit, in

diesem Stadium jedoch beginnt die Verdrängung der nebenliegenden Anlagen (Fig. 17), nur zwei im günstigsten Falle überstehen noch die Reduktion und die Ausbildung des primären Kernes. Dann aber bleibt der eine Embryosack ganz hinter der Entwicklung des stärkeren zurück, dieser hat sich schließlich vollkommen in die Mediane gelegt und seinen Konkurrenten zur Seite gedrängt, welcher, während jener sich nach Durchschreiten der normalen Kernteilungen zum empfängnisreifen Embryosacke ausgebildet hat, sich höchstens zum Vierkernstadium hat durchringen können. Nur in einem einzigen Falle glaubte ich zwei vollkommen ausgebildete Eiapparate erkennen zu können, ungünstigerweise lagen diese in dem betreffenden Schnitte übereinander (15—20 μ), sodaß man ihr Vorhandensein nicht mit unbedingter Sicherheit nachweisen konnte. Immerhin beschreibt ja Hall das Vorkommen und die Ausbildung doppelter Embryonen, welche durch Knospung, also rein vegetativ entstehen sollen. Wenn auch eine derartige Erscheinung sehr wohl eintreten kann und schon bei andern Pflanzen bestätigt ist, so liegt doch die Annahme, die mehrfachen Embryonen könnten mehrfachen Embryosäcken ihren Ursprung danken, nach allem, was an Limnocharis beobachtet werden konnte, nicht allzufern. Denn die synonyme Entwicklung der Doppelanlagen geht bis zu einer ziemlichen Ausbildungshöhe hinauf, schließlich ist von dem Vierkernstadium bis zur Fertigstellung des Eiapparates und der Verschmelzung der Polkerne kein zu großer Schritt, der überhaupt bei Limnocharis mit verhältnismäßig großer Geschwindigkeit erfolgt; und daß zwei Pollenschläuche den Weg durch die Mikropyle finden, ist auch nicht ausgeschlossen. Immerhin wäre man diesem Falle noch eine nähere Untersuchung schuldig, welche nicht im Rahmen dieser Arbeit liegt, ehe das definitive Urteil über den Ursprung mehrerer Embryonen bei Limnocharis gefällt werden kann.

Butomus umbellatus.

Der Gattung Limnocharis steht Butomus umbellatus in der Entwicklung des Embryosackes ziemlich nahe. Ich hatte meine Untersuchungen bereits abgeschlossen, als in der Svensk Botanisk Tidskrift Holmgren (17) seine Arbeit „zur Entwicklungsgeschichte von Butomus umbellatus“ veröffentlichte. Da ich Holmgrens Resultate nur voll und ganz bestätigen kann, was die Entwicklungsgeschichte des Embryosackes angeht, kann ich mich hier darauf beschränken, die Tatsachen zu erörtern, welche zum Vergleiche mit den andern untersuchten Pflanzen in Betracht kommen.

Die jungen Samenanlagen entstehen als Ausstülpungen auf den Seitenwänden der Karpelle und biegen schon in sehr jungem Stadium noch oben, der Narbe zu, um. Manchmal bleibt, wie auch Holmgren

beobachtet hat, die Biegung aus, und die Anlagen sitzen als orthotrope dem langen Funikulus auf. Diese Erscheinung ist meiner Ansicht nach von keiner großen Bedeutung, sie ist einfach durch irgendwelche Hindernisse bedingt, die der Samenanlage in ihrem Wachstum entgegentreten. Bei der großen Anzahl von Anlagen, die alle die synonyme Krümmung ausführen, ist es sehr wohl möglich, daß einzelne, in der Nähe der Plazenta daran gehindert, durch Streckung ihres Funikulus den Hohlraum in der Mitte des Karpells aufsuchen, um sich dort weiter auszubilden. Die Entwicklung des Embryosackes geht auch in diesen Anlagen ganz regelmäßig vor sich.

In der ersten Zellschicht unter dem Dermatogen liegt als Abschluß einer mittleren Zellreihe eine große, durch ihr dichtes Plasma und durch die Chromatinverteilung ihres Kernes vor den andern umliegenden vollkommen charakterisierte Zelle: das Archespor. Bald

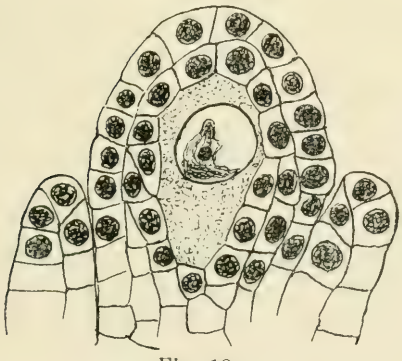


Fig. 18.
Butomus umbellatus.
Embryosack-Mutterzelle in Synapsis.
Vergr. 500.

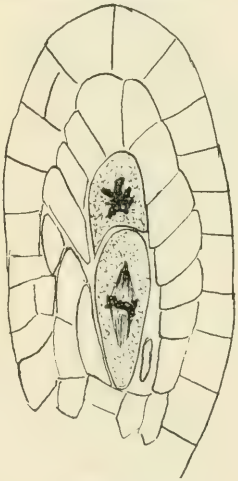


Fig. 19.
Butomus umbellatus.
Homöotypische Spindeln der Reduktionsteilung. Vergr. 500.

erfolgt die Abgabe einer Schichtzelle, welche sich sehr spärlich, oft gar nicht weiter teilt, niemals erreichen die Schichtzellen eine größere Ausdehnung als die einer Zellage. Während die Integumente hervorsprossen, vergrößert sich die Embryosack-Mutterzelle, ein lang andauerndes Stadium der Synapsis (Fig. 18) ist das sicherste Anzeichen der bevorstehenden Reduktionsteilung. Die beiden Teilungen, die heterotypische und homöotypische, zeigen Abweichungen gegenüber dem Normaltypus: die erste Spindel liegt in der Längsachse der Anlage, von den beiden beim zweiten Teilungsschritte entstehenden Spindeln ist die untere longitudinal, die obere transversal orientiert. (Fig. 19.) Übergänge in der Anlage der Spindeln von der longi-

tudinalen zur transversalen Richtung habe ich nicht feststellen können, jedenfalls habe ich niemals die homöotypischen Spindeln in derselben Richtung gefunden. Die unterste, selten die vorletzte Makrospore, wächst zum Embryosacke aus. Ihr Kern durchläuft die regelmäßigen Kernteilungen, welche zur Bildung von Eiapparat, Antipoden und Polkernen führen. Der Embryosack hat in seinem fertigen, empfängnisfähigen Zustande die Schichtzellen und einen großen Teil der Nucelluszellen verdrängt, die in der Antipodalregion befindlichen Nucelluszellen sind langgestreckt und ordnen sich sternförmig um die Antipoden an (cf. Fig. 20). Die Lage der Vakuolen in den Synergiden und der Eizelle ist sehr variierend.

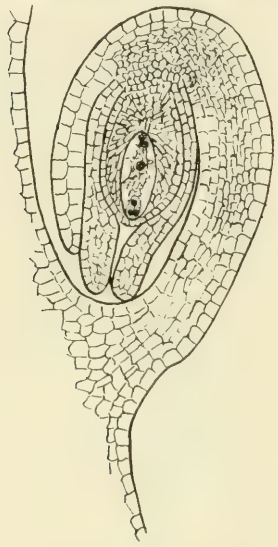


Fig. 20.
Butomus umbellatus.
Befruchtungsreife Samenanlage.
Vergr. 125.

Die Abweichungen von der Norm bei der Ausbildung des Embryosackes habe ich auch finden können. Zwei Archespore waren nicht selten, als Höchstzahl konnte ich vier beobachten; jedoch sah ich sie ausnahmslos nebeneinander liegen, nicht, wie Holmgren gezeichnet hat, unregelmäßig im Nucellus verteilt. Sie entstehen nämlich dadurch, daß das erste Archespor, nachdem es seine Kernmasse vergrößert hat, sich transversal zur Anlagenachse teilt. Dieser Teilungsakt kann sich wiederholen, so entstehen ganz regelmäßig nebeneinander liegende Archespore. Die Unregelmäßigkeit in der Lagerung der Archespore, wie sie Holmgren zeichnet, stellt jedenfalls nicht das früheste Stadium der Archesporbildung dar, sie kann aber daher kommen, daß das eine Archespor schon begonnen hat, die Nebenarchespore zu verdrängen, was bei dem Wachstum der Zellen sehr bald geschieht. Denn einmal würde in dem kleinen Nucellus kaum Raum für vier Embryosäcke sein, ganz abgesehen davon, daß der Funikulus kaum genügend Nährstoffe zu ihrer Ausbildung heranbringen könnte. So zeigt sich auch schon dieser Nahrungsmangel an der weiteren Entwicklung. Nicht alle Archespore sind befähigt, sich weiter zu teilen, Schichtzellen abzugeben etc. Haben aber erst einmal ein oder zwei Archespore in ihrer Entwicklung einen Vorsprung vor den andern, so gelingt es ihnen leicht, durch stärkeres Wachstum, die mit ihnen wohl gleichzeitig angelegten, aber nicht in gleicher Weise ernährten Archespore zu verdrängen. Prädestiniert zu weiterem Wachstum ist schließlich nur ein Archespor, dasjenige, welches die günstigste Ernährungsmöglichkeit

hat, weil es am meisten in der Mediane der Anlage liegt. Mit der Reduktionsteilung hört daher das gleichsinnige Wachstum der beiden Anlagen auf, nur ein Archespor ist zum Embryosacke geworden.

Den andern, von der Norm abweichenden Fall, wo sich anstatt der Tapetenzelle eine überzählige Archesporzelle bildet, also zwei hintereinander liegende Archespore entstehen, habe ich nur in einem Falle gesehen. Es ist jedenfalls klar, daß hier nur die untere Archesporzelle geeignet sein kann, weitere Kernteilungen und Teilungsschritte zu durchlaufen, wo sie durch ihre Nähe zur Chalaza in erster Linie Gelegenheit hat, die durch den Funikulus gelieferten Nährstoffe sich vor der oberen Schwesterzelle anzueignen und zu verwerten. So degeneriert das obere Archespor schnell; irgendwelche Teilungen zu beobachten, ist mir nicht gelungen.

Alismataceen.

Alisma Plantago, Echinodorus.

Unter den Helobiae sind noch die beiden Gattungen Alisma Plantago und Echinodorus untersucht worden. So sehr sich die Entwicklung der Blütenteile, wie auch der Samenanlagen bei diesen beiden Pflanzen deckt, sodaß man sie unbedenklich zusammen behandeln kann, so sehr unterscheidet sie sich anderseits von der bei Limnocharis und Butomus.

Die Karpelle sind einsamig. Das erste, was man von der Samenanlage erkennt, ist eine kleine Erhebung über dem inneren unteren Winkel der Fruchtblatthöhlung. Diese wendet sich senkrecht dem Griffel zu, dreht sich, bis sie schließlich eine vollkommen anatrope Anlage geworden ist. Sehr bald läßt sich das Archespor als subepidermale Zelle erkennen. Die zwei Zellschichten starken, doppelten Integumente wachsen aus dem wenig entwickelten Nucellusgewebe hervor, zur selben Zeit tritt der Kern des Archespors, stark vergrößert und durch ein lockeres Chromatingerüst ausgezeichnet, in das Stadium der Synapsis ein. Die Differenzierung des Archespors in eine Parietal- und Embryosackmutterzelle erfolgt vorher nicht, Archespor und Embryosackmutterzelle sind identisch. Bei der entstehenden Reduktionstetrade tritt keine Zellbildung auf. Die Spindeln der homöotypischen Teilung liegen ähnlich wie bei Butomus und Limnocharis senkrecht zu einander (Fig. 21); daß die ausgebildeten Kerne entsprechend ihren Spindeln nicht dieselbe Lage haben wie bei Butomus und Limnocharis, hat seinen Grund in dem Fehlen der Zellwände zwischen ihnen, was eine Verschiebung der Kerne, eine freie Verteilung nach dem zur Verfügung stehenden Raume gestattet; so kommt es, daß ein Kern sich zwischen zwei andere lagert. Diese Teilungen müssen

sehr schnell vor sich gehen, gewöhnlich sieht man alle Anlagen einer Blüte mit ganz geringen Differenzen im selben Stadium: so trifft man oft nur Synapsis, nur primäre Kerne etc. Bei der Reduktion sieht man in derselben Blüte sehr selten Spindelstadien, ebenso selten das Stadium der vier Kerne; während die eine Anlage die Vorbereitungen zur Diakinese zeigt, weist die andere schon den primären Kern auf. Wenn man bedenkt, welche verschiedenen Schritte zwischen dem Stadium der Diakinese und dem des primären Embryosackkernes liegen, so ist bei der sonst ganz regelmäßigen Gleichsinnigkeit in den Kernteilungen ein Schluß auf ihre Schnelligkeit wohl am Platze.

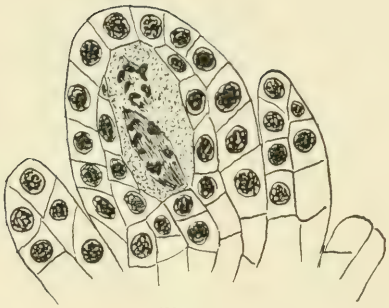


Fig. 21.
Echinodorus.
Reduktionstetradenteilung.
Vergr. 500.

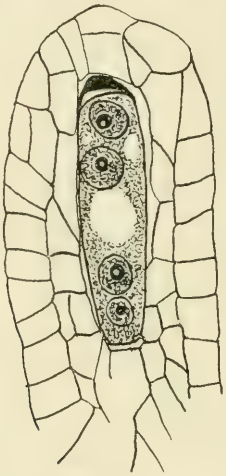


Fig. 22.
Echinodorus.
Vier Kerne im Embryosack.
Vergr. 500.

Der funktionierende Kern bildet um sich eine Zelle und schiebt die drei nackten Kerne vor sich her. Nach ihrer Verdrängung bleibt noch lange an dem apikalen Ende des jungen Embryosackes eine stark färbbare Kappe zurück (Fig. 22), ein sicheres Kriterium für die Erkennung des primären Embryosackkernes. Dieser unterzieht sich den drei Teilungsschritten, es entstehen ganz regelmäßig am oberen und unteren Ende des Embryosackes die beiden Vierergruppen. Frühzeitig sieht man zwei von den oberen Kernen sich abschließen, die Synergiden; der Eikern umgibt sich dann auch noch mit einer Plasmahaut und bildet eine ungemein große Zelle aus, welche ein beträchtliches Stück unter den Synergiden in den Embryosack hineinragt (Fig. 23); die Antipoden umgeben sich meistens nicht mit besonderen Zellhäuten, sondern liegen frei im dichten Plasma des Embryosackes. Erst nach der endgültigen Ausbildung des Eiapparates, kurz bevor

die Blüte sich öffnet, verschmelzen die beiden Polkerne zum sekundären Embryosackkerne. Der fertige Embryosack ist leicht gebogen und hat bei seinem Wachstum nach und nach den ganzen Nucellus verdrängt und resorbiert, sodaß er unmittelbar an das innere Integument anstößt.

Eine Erscheinung läßt sich bei Alisma und Echinodorus mit größter Regelmäßigkeit feststellen: die Kerne, welche den Antipodenapparat bilden sollen, bleiben in ihrer Größe hinter den Kernen des Eiapparates und den Polkernen zurück (Fig. 22). Dieser Ausbildungsunterschied liegt nicht an einer ungleichmäßigen Verteilung der Chromatinmasse auf beide Kerne, erst nach vollzogener Teilung reichert der obere Kern mehr Nuklearsubstanz an und färbt sich infolgedessen auch immer anders als der Antipodalkern. Diese Erscheinung wird Beziehung haben zu einer anderen, daß oft schon angelegte Antipoden nachträglich reduziert werden, oder daß der erste Antipodalkern sich nur einmal teilt; von den beiden sich ergebenden Kernen wird der eine zum unteren Polkern, der andere repräsentiert den Antipodenapparat.

Fig. 23.
Echinodorus — obere Hälfte. Eiapparat, Polkerne. Vergr. 500.

Selten ist bei Alisma und Echinodorus das Auftreten von zwei Archesporen, in älteren Stadien habe ich nie mehr doppelte Anlagen beobachten können, das zweite Archespor scheint bald nach seiner Entstehung wieder der Vernichtung durch die kräftigere Anlage anheimzufallen.

Mit derselben Seltenheit zeigen sich zwei Archespore hintereinander, ähnlich wie bei Butomus. Von der Bildung einer Schichtzelle kann man in diesem Falle nicht sprechen, die Kerne der Schichtzellen unterscheiden sich in Größe und Struktur kaum von denen des umliegenden Nucellusgewebes, in diesem Falle sind jedoch die Kerne der entstehenden Zellen von so großer Ähnlichkeit in Größe und innerem Bau, daß man nur von einer Verdopplung des Archespors reden kann.

Embryologische Unterschiede zwischen Alisma Plantago und Echinodorus habe ich nicht finden können; die Samenanlagen von Echinodorus liegen viel fester in der Höhlung des Karpelles als die von Alisma, ein Umstand, welcher das Wachstum des Pollenschlauches erleichtern mag.

Über den Embryosack von Alisma Plantago hat bereits Schaffner (26) gearbeitet. Abgesehen davon, daß er noch Centrosphären sieht,

ihr Aussehen, ihre Teilung und Kopulation genau beschreibt, was wir heute nicht mehr beobachten können, hat Schaffner noch andere Resultate verzeichnet, die von den oben angegebenen abweichen. Der Autor hat eine Schichtzelle nicht unmittelbar feststellen können, hält aber die Kappe, welche im älteren Stadium der Makrospore noch lange Zeit sichtbar ist, für den Rest der Tapetenzelle. Außerdem gibt er an, daß die Embryosackmutterzelle direkt zum Embryosacke auswächst. Dem ist nicht so. Wie schon dargelegt, gibt das Archespor keine Schichtzelle ab, sondern wird ohne weiteres zur Embryosackmutterzelle. Diese jedoch durchläuft eine regelmäßige Reduktionsteilung, die Kappe, welche Schaffner für eine zerdrückte Tapetenzelle hält, ist der Rest der bei der Reduktion entstandenen drei weiteren Kerne. Bemerkt sei noch, daß Schaffners Zeichnung des Eiapparates keinesfalls der Wirklichkeit entspricht, weiterhin, daß an der Befruchtung nicht nur ein Kern des Pollenkorns, sondern stets zwei teilnehmen, mir lagen deutliche Bilder des Eindringens der beiden Kerne, wie auch der Verschmelzung des zweiten generativen Kernes mit dem sekundären Embryosackkerne vor.

Nach der Einzeldarstellung der Embryosackentwicklung bei den verschiedenen Pflanzentypen soll eine Vergleichung der Übereinstimmungen und Ähnlichkeiten erfolgen, eine Nebeneinanderstellung der homologen Stücke. Ein einfacher Vergleich wird aber nutzlos sein, wenn nicht als zweites eine Wertung der Vergleichspunkte hinzukommt, eine Feststellung ihrer mehr oder minder großen Bedeutung für die Beurteilung der systematischen Stellung ihrer Träger. Eines ohne das andere ist für die Erschließung der Phylogenie vollkommen nutzlos.

Die Anheftung der Samenanlagen ist parietal bei den Nymphaeaccen, auch bei Cabomba, bei Limnocharis und Butomus; bei Echinodorus und Alisma entspringen die Samenanlagen dem Grunde des Karpells.

Alle Samenanlagen sind anatrop, dorsal gelegen und besitzen zwei Integumente, welche durchgängig aus zwei, in den oberen Regionen aus drei Zellschichten bestehen, bei Brasenia hat das ganze äußere Integument deren drei bis vier.

Die Archesporzellen treten bei den Monokotylen als Abschluß einer axialen Zellreihe auf, bei Cabomba war diese Erscheinung in ganz seltenen Fällen festzustellen.

Eine Parietalzelle bildet Brasenia, Cabomba, Limnocharis, Butomus — hier ist von Holmgren ein bisweiliges Fehlen konstatiert worden —, bei Alisma und Echinodorus unterbleibt die Bildung einer Schichtzelle. Bei den sie besitzenden Formen teilt sie sich stets nur durch antikline Wände, sodaß nur eine Zellreihe entsteht, bei den Cabombeen ent-

stehen mehr Schichtzellen als bei den Butomeen, wo mehr als drei bis vier nicht beobachtet wurden.

Bei allen Formen tritt die Reduktionsteilung in der Embryosackmutterzelle ein.

Die Reduktionsteilung selbst erfolgt bei Cabomba in verschiedenen Formen: bei doppelten Embryosäcken sind die Makrosporen zu zwei und zwei übereinander angeordnet, bei einfachen liegen entweder vier Makrosporen hintereinander, oder die homöotypische Teilung erfolgt in T-Form, so auch bei allen andern untersuchten Pflanzen. Eine Verschiedenheit tritt in der Wandbildung zwischen den Makrosporen auf: Bei den Cabombeen feste Wände, ebenso bei Limnocharis; bei Butomus z. T. Wandbildung, z. T. nicht völlige Ausbildung, z. T. auch — jedoch seltener — gänzliches Fehlen trennender Wände, dies letztere ist stets bei Alisma und Echinodorus der Fall.

Zum Embryosacke bildet sich aus: Bei Cabomba meistens die unterste Zelle der Tetrade, jedoch machen sich oft zwei Makrosporen den Rang streitig, nur eine schließlich funktioniert als Embryosack. Bei allen andern Formen wird die unterste Zelle zum Embryosacke (bei Limnocharis oft die dritte), bei Alisma-Echinodorus werden drei Kerne resorbiert.

Der primäre Embryosackkern teilt sich in einer zur Längsachse um ca. 45° gedrehten Ebene bei den Cabombeen und Limnocharis (bei Butomus konnte das ausschlaggebende Stadium nicht gefunden und beobachtet werden).

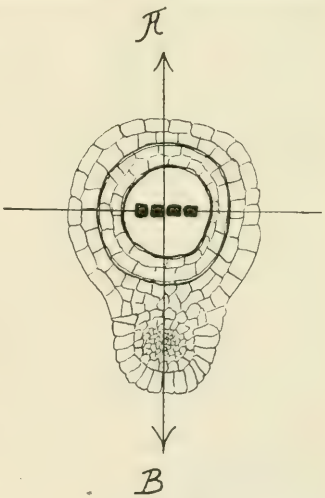


Fig. 24.
Samenanlagen-Querschnitt.
A—B Funikulusebene.

Die Weiterentwicklung des Embryosackes geht regelmäßig vor sich, durch eine dreifache Teilung entstehen zwei Synergiden, der Eikern, die Antipoden, zwei miteinander zum sekundären Embryosackkerne stets verschmelzende Polkerne.

Die Antipoden degenerieren oft bei allen beschriebenen Gruppen, so kommt es, daß sie bisweilen als Zellen, bisweilen nur als freie Kerne auftreten.

Mehrere Archespore treten bei allen Formen auf. Ihre Bildung geschieht gleichmäßig durch transversale Teilung des primären Archespors, sie enstehen nie als Entwicklungsprodukte eines schon vorhandenen umfangreichen Archesporgewebes. Die Entwicklung geht bei den Cabombeen und Butomeen bis etwa in dasselbe Stadium hinein, bei den Alismataceen

werden sie nur noch angelegt und gehen schnell zugrunde. Die entstehenden doppelten bis vierfachen Embryosäcke liegen stets in einer Ebene, die so orientiert ist, daß sie auf einer durch den Funikulus und die Samenanlage gedachten Ebene, der Mediane der Samenanlage, senkrecht steht. (Fig. 24.)

Daneben ist das Auftreten von zwei Archesporen, welche hintereinander gelegen sind, bei Cabomba, Butomus und Alisma beobachtet.

Zur Vergleichung der Embryosackentwicklung muß als Ergänzung die Beurteilung der gewonnenen Resultate für die Systematik hinzutreten.

Neben dem Werte für die Phylogenie, welcher in jeder vergleichenden Betrachtung liegt, scheint mir der der phylogenetischen Betrachtung des Embryosackes in seiner Entwicklung noch auf einer anderen Grundlage zu basieren, was gerade für die Monokotylen von Wichtigkeit ist. Die Besonderheiten, welche sich allgemein an einer Pflanze ausprägen, treffen Organe oder Vorgänge, welche der Anpassungsmöglichkeit zugänglich sind, ich möchte sie als ökologische oder biologische Werte bezeichnen: so bei den Monokotylen, z. B. die Anpassung an die geophile Lebensweise, die in dem Verluste des sekundären Dickenwachstums durch Cambiumtätigkeit, in Rhizom- und Knollenbildung zum Ausdruck kommt. Auf diese Erscheinungen allein wird man schwerlich ein ganzes System aufbauen können. Anderseits müssen sich dort, wo ein Anpassungszwang an die Formationen nicht herantritt, im Innern von Organen zum Beispiel, besonders deutlich die Eigentümlichkeiten der Vorfahren einer Reihe zeigen, mithin für die Phylogenie weit sicherere Anhaltspunkte sich ergeben, als bei Organen, die dem Spiel der äußeren Ursachen preisgegeben sind, ihm nachgeben, mit andern Worten sich anpassen müssen, wollen sie nicht den neuen Verhältnissen einfach zum Opfer fallen. — Auch eine andere Schwierigkeit fällt beim Embryosacke vollkommen fort: Bei äußeren, der Wirkung der Existenzverhältnisse frei ausgesetzten Organen, treten sowohl stark abgeleitete Formationen auf, neben ihnen aber auch solche, welche auf niederer Organisationsstufe stehend einen ursprünglichen Typus darzustellen scheinen. „Scheinen", denn in vielen Fällen muß es unbeantwortet bleiben, ob wirklich ein Merkmal höheren Alters vorliegt, oder ob es sich nicht dadurch als trügerisch und irreführend erweist, daß ein Organ im Laufe seiner Entwicklung nur irgend einem, durch neue ökologische Verhältnisse bedingten Reduktionsschritte sein äußeres, es als ursprünglich charakterisierendes Aussehen verdankt, in Wirklichkeit trotzdem einer jüngeren Formation angehört. Gerade die Beurteilung des phylogenetischen Wertes einzelner Formen, ob ursprünglich oder nur aus einer schon abgeleiteten wieder reduziert, tritt bei einem Organe, welches im Innern der Pflanze liegt,

und dazu gehört der Sexualapparat, zurück und macht die Lösung der Frage nach seiner phylogenetischen Stellung leichter. Die Schwierigkeiten hingegen bei der Benutzung des Embryosackes als Merkmal für die Stellung der Pflanzen im System liegt darin, daß wir die Homologien der Embryosackteile nicht angeben können, und so vorläufig noch auf ein gewisses Tasten angewiesen sind.

Als Grundzüge für die phylogenetische Wertung des Embryosackes lassen sich vorläufig keine andern angeben als die für die Phylogenie sonst geltenden: Unbestimmte, variable Zahl von Gliedern oder Organen ist als Kriterium für Ursprünglichkeit anzusehen, Fixierung der Zahl als ein Zeichen für höher stehende Formen. Diese Gesichtspunkte werden sich auch ohne weiteres auf Entwicklungsvorgänge übertragen lassen, mannigfaltige Form und Ausbildung der Embryosäcke wird älter sein als ihre Entwicklung nach einem bestimmten, so gut wie unveränderlichen Schema. Für die Entwicklung des weiblichen Sexualapparates und dessen phylogenetischer Beurteilung kommen unter Umständen noch Anklänge an die Gametophytenentwicklung der Pteridophyten und Gymnospermen als Kriterien in Betracht.

Als erster Vergleichspunkt war die Anheftung und äußere Gestalt der Samenanlagen angegeben. Wir finden hier Übereinstimmungen zwischen den Nymphaeaceen und den Butomeen in der parietalen Anheftung und in der großen Zahl der Samenanlagen. Das ist sicherlich ein Merkmal höheren Alters, während die streng durchgeführte Einsamigkeit der Alismataceen auf eine jüngere Entwicklungsstufe hindeutet. Gemeint sind hier mit Nymphaeaceen Typen wie Nymphaea alba oder Victoria regia; Cabomba stellt mit ihrem apokarpen, aber der Zahl der Karpelle nach schon fixierten Fruchtknoten einen andern Zweig der Entwicklung dar. Brasenia hat ebenfalls zahlreiche Karpelle ohne bestimmte Zahl, welche sogar noch acyclisch angeordnet sind, beide weisen aber schon eine kleine, feste Zahl von Samenanlagen auf. Ich stelle mir die Entwicklungsgeschichte der Nymphaeaceenblüte so vor, daß sie ausgeht von einer in allen Teilen acyklisch angeordneten, apokarpen, mit zahlreichen Samenanlagen in den ebenso zahlreichen Fruchtblättern. Von diesem Typus hat sich einerseits durch Verschmelzen der Karpelle unter Beibehaltung der zahlreichen, parietal gestellten Samenanlagen der einer Nymphaea alba z. B. herausgebildet, anderseits durch Reduktion der Zahl der freien Karpelle und Fixierung der Zahl der Samenanlagen der einer Brasenia und Cabomba. Jedenfalls zeigt Cabomba noch parietale Anheftung der Samenanlagen, steht also in dieser Hinsicht den Butomeen nicht zu fern. Die Ableitung der einsamigen Karpelle bei Alisma von den vielsamigen bei Butomus und Limnocharis durch Reduktion ist wohl mit keinen Schwierigkeiten

verbunden. In dem sonstigen Bau der Samenanlagen, ihrem Anatropismus, dem Besitz von zwei Integumenten mit der gleichen Zahl von Zelllagen zeigen sich unverkennbare Übereinstimmungen, daß die bisher ungeklärte Frage nach der Homologie der Integumente, und daraus folgend: der Ursprünglichkeit der einfachen oder doppelten Anlage nicht berührt zu werden braucht.

Als charakteristisch für Monokotylen wird immer angegeben, daß die Archesporzellen als Abschluß einer axialen Zellreihe auftreten, bei Dicotylen hingegen dies nicht der Fall ist. In der Lage des Archespors und dem scharf differenzierten Bau der Monokotylenanlage kann man leicht ein Merkzeichen höherer Entwicklung erblicken gegenüber der willkürlichen Zellgruppierung der Dikotylenanlage. Es sei aber darauf hingewiesen, daß ein monokotylenähnlicher Bau bei einigen Samenanlagen der Cabomba auch beobachtet worden ist.

Was die Abgabe einer Schichtzelle angeht, welche mit Ausnahme der Alismataceen erfolgt, so sei zu ihrer Beurteilung auf eine Erscheinung bei dem Cabomba nicht so fern stehenden Nelumbium aufmerksam gemacht. Dort entsteht ein umfangreiches Parietalgewebe, welches die Aufgabe hat, die Mutterzelle tief in die Chalazaregion hinunter zu schieben. Wie Nelumbium, so besitzt auch Cabomba und Brasenia ein stark entwickeltes Nucellusgewebe. Die Schichtzellen haben bei Cabomba nicht diese Bedeutung, bei Limnocharis und Butomus mit ihrem wenig entwickelten Nucellusgewebe wäre eine derartige Tätigkeit der Schichtzellen durch Gewebebildung nicht erforderlich, und bei Alisma, wo der Nucellus, an und für sich schon klein, im Laufe der Entwicklung von dem wachsenden Embryosacke absorbiert wird, treten gar keine Schichtzellen auf. Man könnte auf den Gedanken kommen, das Auftreten von Schichtzellen mit der Größe des Nucellus in Zusammenhang zu bringen, aber zu diesem Punkte liegen noch zu wenig Beobachtungen vor, welche eine sichere Lösung dieser Frage ermöglichen könnten. Will man danach das Vorhandensein von Schichtzellen als ursprünglich, ihre Funktionslosigkeit oder gar ihr gänzliches Fehlen als abgeleitet hinstellen, so darf man sich anderseits auch der Ansicht nicht verschließen, welche die Fähigkeit der Parietalzelle, in Funktion zu treten und ein Gewebe zu bilden, erst als sekundär erworben anspricht. Aus der Homologie zu dem gleichen Organ bei der Pollenentwicklung zu schließen, ist allerdings wiederum das Vorhandensein von Schichtzellen als Merkmal von Ursprünglichkeit hinzustellen. Die Entwicklung der Schichtzellen bis zu ihrer schließlichen Absorption durch den Embryosack ist sonst genau dieselbe bei den Formen, welche sie überhaupt besitzen. Butomus, wo zuweilen Schichtzellen gebildet werden, zuweilen nicht, steht in der Mitte zwischen den Nymphaeaceen mit Limnocharis und den Alismataceen.

Bei den Entwicklungsvorgängen von der Reduktionsteilung an bis zur Bildung des primären Embryosackkernes zeigt sich entschieden bei Cabomba die größte Mannigfaltigkeit. Drei Formen der Tetradenbildung treten uns entgegen, die Tetrade der doppelten Embryosäcke, welche in ihrer Lagerung, besonders wenn man sie von der Seite betrachtet, eine unverkennbare Ähnlichkeit hat mit Tedradenbildungen bei Pteridophyten und Gymnospermen, dann die Teilung in T-Form, welche den Beobachter auch an ähnliche Formen wie Reduktion von Pollenmutterzellen erinnert, schließlich als am weitesten entwickelte Form die Tetradenbildung in gleicher Achse. Die zweite Form, die so charakteristisch ist, tritt nun auch bei allen andern untersuchten Gattungen auf und scheint mir ein systematisches Merkmal von Bedeutung zu sein. Die Erscheinung, daß bei Alisma-Echinodorus keine Wände zwischen den Makrosporen entstehen, zeigt sich organisatorisch als ein Fortschritt, immerhin behalten aber trotz des Wegfalls der trennenden Wände die Kerne ihre Individualität bei, drei werden verdrängt und absorbiert, während nur einer geeignet ist, die Funktion des Kernes im jungen Embryosacke zu übernehmen. Trotz dieser organisatorischen Verschiedenheit ist also der Vorgang bei Alisma und Echinodorus dem bei Butomus-Limnocharis etc. homolog und von ihm ableitbar. Dies Merkmal, daß drei Kerne zugrunde gehen, muß hervorgehoben werden, weil es im Pflanzenreiche Fälle gibt, wo nach Wegfall der Wände alle vier Makrosporenkerne sofort in den jungen Embryosack als Kerne eintreten. Die Verdrängung dreier Makrosporen oder ihrer isolierten Kerne ist also Gemeingut der untersuchten Pflanzen. — Bei Cabomba tritt nun noch eine besondere Eigentümlichkeit hinzu: Mehrere Makrosporen haben das Bestreben, einen Embryosack auszubilden, ihre Gleichwertigkeit lange Zeit zu wahren. Hierin erblicke ich ein Merkmal großer Ursprünglichkeit. Im Grunde genommen muß jede Makrospore, mit haploider Chromosomenzahl im Kerne ausgestattet, entwicklungs- und befruchtungsfähig sein. Aber nur eine hat gewöhnlich die Fähigkeit, auf Kosten der drei andern, mit ihr zusammen angelegten, aber nicht funktionierenden Schwestermakrosporen sich weiter auszubilden. Wo also diese noch zum Teil wenigstens entwicklungsfähig sind, dort scheint ein Kennzeichen für hohes Alter der Pflanze vorzuliegen. Wie es auch unter den Pteridophyten Fälle gibt, wo alle vier aus der Mutterzelle durch Tetradenteilung entstehenden Makrosporen entwicklungsfähig sind, und andere, wo nur eine sich nach Unterdrückung der andern ausbildet, so scheint sich in demselben Sinne diese Entwicklungsreihe bei den Angiospermen zu wiederholen. Dieselbe Erscheinung wie bei Cabomba findet sich im Pflanzenreiche nach bisherigen Beobachtungen noch einmal, bei einer Pflanze, an deren hohem Alter man schlechthin nicht zweifeln kann: bei Casuarina

(beobachtet von Treub, bestätigt von Frye). Hier tritt dieser Vorgang sogar so weit in den Vordergrund, daß überhaupt keine Makrospore resorbiert oder verdrängt wird, in sehr häufigen Fällen hingegen mehrere Makrosporen zugleich keimen und es bis auf acht Kerne, bis zur Normalzahl, bringen. In dieser fast vollkommenen Gleichwertigkeit der Makrosporen liegt ein Merkmal großer Ursprünglichkeit, welches das hohe Alter der Nymphaeaceen zu betonen geeignet ist, zugleich aber auch zeigt, daß die Monokotylen, wo diese Gleichwertigkeit der Makrosporen nicht mehr erhalten ist, einer jüngeren Entwicklungsperiode angehören.

Die weitere Entwicklung des Embryosackes geht ganz regelmäßig vor sich, eine charakteristische Gleichheit liegt noch in der Teilung des primären Embryosackkernes bei Cabomba und Limnocharis vor: sie erfolgt in einer zur Achse des Embryosackes schiefen Richtung. Inwieweit man dies als systematisches Merkmal auffassen kann, ist mir nicht möglich zu entscheiden, jedenfalls soll auf diese, gerade bei diesen Pflanzen vorkommende Ungleichmäßigkeit hingewiesen sein.

Eine der anziehendsten Erscheinungen war mir das Auftreten der doppelten bis vierfachen Archespore und der sich daraus entwickelnden Embryosäcke. Sie treten bei allen Gruppen auf, die zur Untersuchung herangezogen waren. Ihre Entstehung deckt sich überall: sie gehen alle auf ein Archespor zurück, aber nicht nur darauf beruht ihre Ähnlichkeit, sie spricht sich besonders in ihrer Lage aus, welche ganz typisch bei allen Gattungen die gleiche ist, um es kurz auszudrücken: senkrecht zur Funikulusebene. Nicht nur auf dem Vorhandensein mehrfacher Archespore beruht der Wert dieser Erscheinung für die Phylogenie dieser Gruppe, sondern auf ihrer gleichmäßigen Lage. Mehrere Archespore kommen mannigfach bei andern Familien vor, bei Fagus, Corylus, Carpinus (Miss Benson), Quercus (Conrad), Juglans (Karsten), z. T. auch bei Salix und Populus (Chamberlain), ihre Lage zur Funikulusebene aber ist, soweit bisher in Zeichnungen und Beschreibungen darauf geachtet ist, verschieden: bei Nymphaeaceen, Butomeen senkrecht zur Funikulusebene, bei Rosa livida (Strasburger) (29) in ihr, ebenfalls bei Lilium longiflorum (Miss Ferguson) (11), bei Ranunculaceen: Delphinium (Mottier) (20). Das Merkmal mehrfacher Archespore ist, wo es bei andern alten Familien vorkommt, wie die obige Zusammenstellung zeigt, — bei höher stehenden Familien: Asclepiadeen, Rubiaceen, Compositen ist das Vorkommen weit seltener — als eins von Ursprünglichkeit anzusehen, besonders wo man Ähnlichkeiten mit den Pteridophyten feststellen kann. Um so mehr muß noch die vollkommen gleichsinnige Lage bei allen in Betracht kommenden untersuchten Familien auffallen. Die Entwicklung der mehrfachen Embryosäcke reicht bei den Cabombeen und Butomeen bis etwa in

das gleiche Stadium, bei Alisma und Echinodorus sind nur noch Archespore, nie Mutterzellen oder gar Embryosäcke in Mehrzahl beobachtet worden.

Eine weitere Übereinstimmung der untersuchten Familien spricht sich in dem Vorkommen mehrerer Archespore, die hintereinander liegen, aus, daß diese nicht lange Zeit nebeneinander existieren können, wurde schon oben erörtert. Jedoch spricht auch diese Art der Vermehrung der Archespore für ein hohes Alter der Pflanzen.

Nach allem Gesagten weisen die untersuchten Arten so viel Gemeinsames auf, daß eine Ableitung einer von der andern Gruppe, der Monokotylen von den Nymphaeaceen, auf Grund der Entwicklungsvorgänge im Embryosacke wohl möglich erscheint.

Nun haben aber auch Stimmen nicht gefehlt, welche den Anschluß für die Monokotylen bei den Ranunculaceen gesucht haben. Über die Embryologie der Ranunculaceen sind wir verhältnismäßig gut unterrichtet. Ich erachte es daher für notwendig, die Embryosackentwicklung der Ranunculaceen mit der der Monokotylen einerseits und der der Nymphaeaceen anderseits kurz zu vergleichen. Ich stütze mich auf die Arbeiten von Guignard (15), Mottier (20), Prantl (21), Riddle (23), Strasburger (29). Aus ihnen ergibt sich folgendes:

1. Die Anordnung der Blütenteile z. T. acyklisch, z. T. cyklisch.

2. Freie, zahlreiche Karpelle.

3. Anheftung der Samenanlagen in zwei Reihen längs der Bauchnaht des Karpells, oder bei Einsamigkeit am Grunde der Bauchnaht median entspringend, z. T. dorsal gelagert, auch ventral vorkommend. Parietale Entstehung der Anlagen nirgends.

4. Nur ein Integument bei den meisten Formen, doppeltes Integument seltener.

5. Das Archespor häufig Produkt einer axialen Zellreihe.

6. Schichtzellen werden nicht ausgebildet.

7. Reduktionsteilung immer in der Embryosackmutterzelle stattfindend, Tetradenbildung in den weitaus meisten Fällen in der Längsachse der Anlage; in T-Form bei Ranunculus abortivus, bei Ranunculus septentrionalis; ein Übergang zwischen der geraden Anordnung und der in T-Form findet sich bei Ranunculus recurvatus (Mottier, Fig. 43). Bei Myosurus u. a. entstehen nur drei Makrosporen. Im übrigen geschieht die Tetradenbildung normal in einer Richtung. Wände zwischen den Makrosporen vorhanden, in vereinzelten Fällen entsteht zwischen den oberen Makrosporen keine Wand.

8. Keine Verdrängung der funktionslosen Makrosporen durch Wachstum einer Makrospore, sondern deren langsames Absterben; der entstehende Raum wird erst viel später, nachdem ihn die turgescenten Nucelluszellen beansprucht haben, von der wachsenden Plasmamasse

des jungen Embryosackes eingenommen. (Mottier: Fig. 8, 27, 28, 39 etc.)

9. Lage der Teilungsspindel des primären Embryosackkernes normal in der Achse der Anlage.

10. Weitere Ausbildung des Embryosackes normal, Antipoden durch ihre Größe auffallend.

11. Mehrfache Embryosäcke bei manchen Formen vorhanden, in der Funikulusebene liegend.

12. Über mehrfache, hintereinander angeordnete Archespore berichten die Verfasser nichts.

Vergleicht man diese verschiedenen Embryosacktypen miteinander, so sind sicherlich die Übereinstimmungen zwischen Monokotylen und Nymphaeaceen bei weitem größer und charakteristischer als die zwischen Ranunculaceen und Monokotylen[1]), und so scheinen mir nach allen diesen Resultaten, insbesondere auch nach denen der sonstigen Anatomie, die Monokotylen nicht unter den Ranunculaceen ihre Ahnen zu haben trotz der schönen Untersuchungen von Miss Sargant (25). Wenn Holmgren glaubt, wegen der doppelten Archespore bei Butomus und den Ranunculaceen die Monokotylen an diese anschließen zu müssen, so könnte man mit demselben Rechte die Nymphaeaceen dazu ausersehen. Und wenn Buchenau (4) der Ansicht ist, daß wegen der Insertion der Samenanlagen bei Echinodorus und Ranalisma auf der einen Seite und Ranunculus und Adonis auf der andern die Monokotylen mit Ranunculaceen in Verbindung zu bringen seien, so ist wohl die Frage erlaubt, wie er nach demselben Prinzip die Butomeen unterbringen will, denn sie sind seiner eignen Ansicht nach ursprünglicher als die Alismataceen. Hier scheitert meiner Meinung nach die ganze Hypothese einer Abzweigung der Monokotylen von den Ranunculaceen; Butomeen und Nymphaeaceen hängen wegen ihrer Flächenplacentation und den Übereinstimmungen in der Embryosackentwicklung viel enger zusammen. Zudem ist die Summe morphologischer und anatomischer Vergleichspunkte mit den Monokotylen größer bei den Nymphaeaceen als bei den Ranunculaceen.

Nach der Entwicklungsgeschichte des Embryosackes ist eine klare Reihe von den Nymphaeaceen zu den Helobiae hin zu erkennen, von der Fähigkeit, Fortpflanzungsorgane in unbestimmter Anzahl und Form, dazu noch in verschiedener Weise der Ausbildung (Tetradenformen bei Cabomba) zu entwickeln, zur Fixierung der Zahl und zur Regelmäßigkeit und Gesetzmäßigkeit in ihrer inneren Ausstattung. Und daß diese Reihe keine künstliche ist, dafür bürgen die vielen Über-

[1]) cf. die Zusammenstellung der Vergleichsmerkmale zwischen Nymphaeaceen, Monokotylen und Ranunculaceen am Schluß der Arbeit.

einstimmungen in den einzelnen Formen, besonders solche charakteristischen wie die T-Form der Makrosporentetrade, die Lage der mehrfachen Embryosäcke zur Funikulusebene u. a. m.

Aber noch andere Stufenfolgen der Entwicklung[1]) glaube ich feststellen zu können, ohne damit ihre sonstige Bedeutung für die Systematik unzweideutig nennen zu wollen. In der Größe des Nucellus ist bei der untersuchten Reihe eine Reduktion leicht zu erkennen: Die Cabombeen entwickeln den größten Nucellus, der der Butomeen steht ihnen an Mächtigkeit bei weitem nach, bei Alisma und Echinodorus wird er wohl angelegt, aber von dem wachsenden Embryosacke vollkommen absorbiert.

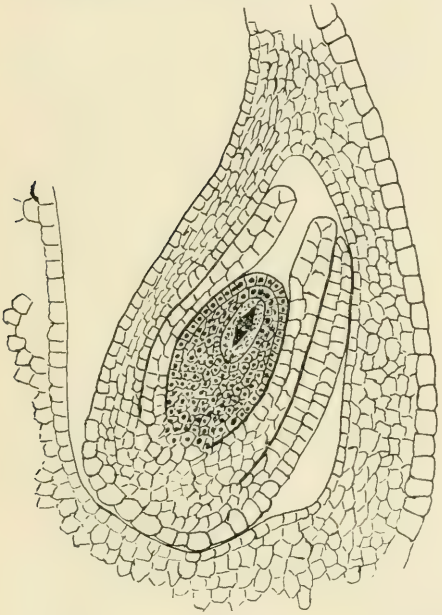


Fig. 25.
Cabomba caroliniana.
Heterotypische Reduktionsspindel.
Vergr. 125.

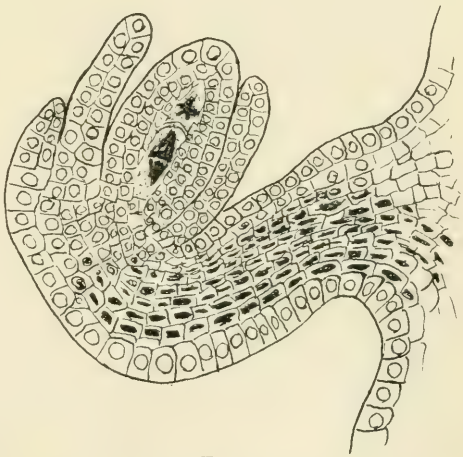


Fig. 26.
Butomus umbellatus.
Homöotypische Reduktionsspindeln.
Vergr. 250.

Die Tapetenzellen erreichen bei den Cabombeen ihre regelmäßigste und weitgehendste Ausbildung, die Tapetenzelle bei Butomus ist von sehr schwankender Natur, ihr Variationsvermögen tritt noch schärfer dadurch hervor, daß sie bisweilen „sämtliche morphologischen Eigenschaften einer Embryosackmutterzelle übernehmen kann.“ Bei Alisma und Echinodorus ist ihre Bildung überhaupt unterblieben.

Im Verlauf der Reduktions- und Tetradenteilung erfolgt eine Wandbildung bei Cabomba, bei Butomus variierend, bei Alisma nicht.

[1]) cf. Tabelle: Entwicklungsreihen, S. 265.

Der Zeitpunkt der in der Embryosackmutterzelle eintretenden Reduktion im Verhältnis zur Ausbildung des Nucellus und der Integumente ist auch charakteristisch. Die Integumente haben sich bei Cabomba bereits über dem Nucellus fast geschlossen, wenn die Reduktion eintritt (Fig. 25), bei Butomus haben sie etwa die Spitze des Nucellus erreicht (Fig. 26), bei Alisma stehen sie noch vollkommen in jungen Stadien der Entwicklung (Fig. 21). Inwieweit diese Vergleichspunkte als Merkmale von Entwicklungsstufen dienen können, kann ich nicht feststellen. Bei der zuletzt angegebenen Beobachtung, der langsamen Reifung des weiblichen Sexualapparates im Vergleich zum Auswachsen der ihn einschließenden Teile — sie kann bei Cabomba keine Folge der Degeneration des Gynaeceums sein, wie es sonst wohl Regel ist, daß Organe, welche verkümmern, auch verspätet angelegt werden; bei der fruktifizierenden Cabomba aquatica und Brasenia erfolgt die Anlage der Reduktionsspindeln genau so spät wie bei Cabomba caroliniana — erinnert man sich unwillkürlich an ähnliche Vorgänge bei den Gymnospermen. Vielleicht sind auch diese Erscheinungen entwicklungsgeschichtlich von Bedeutung.

Daß Butomus, Alisma, überhaupt die niederen Monokotylen, direkt an Cabomba anzuschließen und von ihr abzuleiten sind, soll mit allem Auseinandergesetzten natürlich nicht gesagt sein. Vielmehr stelle ich mir den Ausgangspunkt sowohl für die Reihen der apokarpen und synkarpen Nymphaeaceen, ebenso wie für die Monokotylen, als eine Pflanze vor mit zahlreichen Blütenteilen in acyklischer Stellung, mit apokarpen Fruchtblättern, in denen zahlreiche Samenanlagen parietal, wie jetzt noch bei den synkarpen Nymphaeaceen, vorhanden waren. Daß Cabomba direkt mit Alisma z. B. zusammenhängt, was nach äußeren Anzeichen leicht zu vermuten wäre, dagegen spricht schon die bereits vollkommen fixierte Zahl der Blütenteile bei Cabomba, außerdem die Ausbildung des Perianths: Bei Cabomba ein Perigon, bei Alisma in Kelch und Krone geschieden. Allerdings sind ja der pentacyklische Bau der Cabombablüte, der sympodiale Bau des Rhizoms mit monopodialen Blütensprossen Merkmale, welche Cabomba garnicht weit von den Monokotylen stehend erscheinen lassen. Ob man diese Ursprungsgruppe, von denen sich die beiden Entwicklungsreihen — apokarpe Nymphaeaceen und niedere Monokotylen — in verschiedenen Richtungen entfernen, Proranales nennen will, wie einzelne Forscher angegeben haben, und in diese auch den Ursprung der Ranunculaceen hineinverlegen will, soll hier nicht weiter erörtert werden, ist auch für die zu behandelnde Frage erst von sekundärem Interesse.

Ich glaube nicht, mit dieser Untersuchung das letzte Wort zur Phylogenie der Monokotylen gesprochen zu haben. Unsere Kenntnisse vom Embryosack und seinen Teilen, seiner eigenen phylogenetischen

Entwicklung, seinen Homologien, sind noch zu wenig umfassend, um eine endgültige Lösung der Frage nach dem Ursprung der Monokotylen, gegründet auf der Entwicklungsgeschichte ihres Embryosackes, zu bieten. Erst wenn sich Richtlinien zeigen, Vergleiche der Embryosackentwicklung in andern engeren und weiteren Angiospermenfamilien, wird man auch über diese Frage zu größerer Klarheit kommen. Den ähnlichen Zweck würden die vergleichenden Studien über Anlage und Entwicklung der Archegone bei den Gymnospermen und Pteridophyten haben. Eines scheint mir aber aus den Untersuchungen doch hervorzugehen, daß es möglich ist, den Embryosack zu phylogenetischen Studien zu verwenden, daß es auch bei diesem Organe der Pflanze gelingt, ursprüngliche und abgeleitete Formen festzustellen. Freilich, „die Daten, auf die wir unsere Meinungen basieren, sind stets ungenügend, aber die Bildung solcher Meinungen führt meistens zu neuen Untersuchungen und ist notwendig zum Fortschritt“. Eine völlige Vernachlässigung des Sexualapparates in der Phylogenie der Angiospermen ist jedenfalls ebenso untunlich, wie die Durchführung des andern Extrems, auf ihn allein ein System aufzubauen. Nur aus der Berücksichtigung aller Merkmale, auch der des Sexualapparates, wird schließlich ein wahrhaft natürliches System sich ergeben.

Zusammenstellung der Vergleichsmerkmale

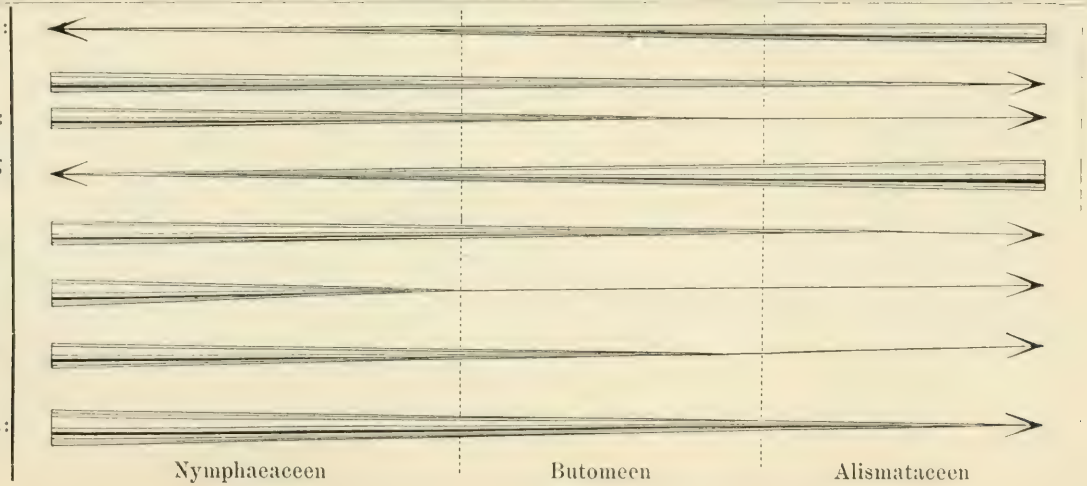
zwischen

Beobachtungen von:	apokarpen Nymphaeaceen	Helobiae		Ranunculaceen
		Butomeen	Alismataceen	
	Raciborski, Cook, Nitzschke	Ward, Holmgren, Nitzschke	Schaffner, Nitzschke	Guignard, Mottier, Prantl, Riddle, Strasburger
Anheftung der Anlage im Karpell:	parietal		am Grunde entspringend	zwei Reihen längs der Bauchnaht, am Grunde entspringend, median, niemals parietal
Lage der Samenanlage a) zum Funiculus:	anatrop			
b) zur Placenta:	dorsal			dorsal, ventral
Integument:	zweifaches			selten zweifaches, meistens einfaches
Lage des Archespors:	selten Abschluß einer axialen Zellreihe	immer Abschluß einer axialen Reihe		oft Abschluß einer axialen Reihe
Parietalzellen:	in großer Anzahl vorhanden	In kleiner Anzahl vorhanden, Butomus bisweilen fehlend (Holmgren)	fehlend (Nitzschke)	fehlend
Reduktionsteilung:	in der Embryosackmutterzelle stattfindend			
a) Formen:	drei: 1) Tetrade bei doppelten Embryosäcken 2) " " einfachen " 3) " " " " (Nitzschke)	zwei: meistens: (Holmgren Nitzschke) selten: (Holmgren)	eine: (Nitzschke)	Ranunculus abortivus, R. septentrionalis R. recurvatus meistens Myosorus u. a. nur 3 Zellen (Straßburger)
b) Wandbildung zwischen den Makrosporen:	feste Wände	meistens feste Wände (Holmgren, Nitzschke) z.T. nicht völlige Ausbildung, gänzliches Fehlen (Holmgren)	keine Wände (Nitzschke)	vorhandene Wandbildung, selten: Fehlen der Wände zwischen oberen Makrosporen

sackes übernimmt:	zwei lange Zeit gleichwertig (Nitzschke)	Nitzschke) Limnocharis oft vorletzte (Nitzschke)	(Nitzschke)	unterste Makrospore
Resorption der funktionslosen Makrosporen:	durch Wachstum einer Makrospore (Verdrängung)			Keine Verdrängung, sondern Absterben der Makrosp. (Mottier)
Teilung des primären Embryosackkernes:	45° zur Anlagenachse (Nitzschke) Butomus unbekannt		in Achse der Anlage	
Weitere Ausbildung des Embryosackes: a)	regelmäßig in drei Teilungsschritten			
b)	Reduktion der Antipoden bemerkbar, daher bisweilen Zellen, bisweilen Kerne (Nitzschke)			keine Reduktion, sogar mächtige Zellen
Vermehrung der Archespore a) nebeneinander:	Archespore → Embryosäcke (Holmgren, Nitzschke)		nur Archespore (Nitzschke)	Archespore → Embryosäcke (Mottier u. a.)
α) Bildung:	durch transversale Teilung des primären Archespors (Ranuncul. nichts berichtet, jedoch sicher ebenso).			
β) Lage:	senkrecht zur Funikulusebene (Nitzschke)			in Funikulusebene liegend (Strasburger, Mottier.
b) hintereinander liegend:	vorhanden (Holmgren, Nitzschke)			niemals beobachtet

Entwicklungsreihen.

Anmerkung: Die Spitze des Pfeiles deutet eine Abnahme des Wertes an, die einfache Linie den Wert 0.



Literaturnachweis.

1. Bessey, C. E., Phylogeny and Taxonomy of the Angiosperms. Bot. Gaz. 24. 1897.
2. Buchenau, Über die Richtung der Samenknospe bei den Alismataceen. Pringsh. Jahrb. VII. 1868.
3. — Beiträge zur Kenntnis der Butomaceen, Alismaceen, Juncaginaceen. Engl. Jahrb. II. 1882.
4. — Alismataceen. In Englers Pflanzenreich. Heft 16. 1903.
5. Conard, H. S., The Waterlilies. Carnegie-Stiftung, Washington 1905.
6. Cook, M. Th., The embryogeny of some Cuban Nymphaeae. Bot. Gaz. XLII. 1906.
7. Engler-Prantl, Natürliche Pflanzenfamilien.
8. Engler, Das Pflanzenreich.
9. Engler, Die systematische Anordnung der monokotylen Angiospermen. Abh. d. k. Akad. d. Wiss. Berlin, phys.-math. Kl. Abt. II. 1892.
10. A. Ernst, Zur Phylogenie des Embryosackes der Angiospermen. Ber. d. D. bot G. 26a. 1908.
11. Ferguson, Two Embryosac Mother cells in Lilium longiflorum. Bot. Gaz. 31. S. 369.
12. Fritsch, K., Stellung der Monokotylen. Englers Jahrbücher 34. Beibl. 79, 22. 1908.
13. Goebel, Pflanzenbiologische Schilderungen.
14. — Vergleichende Entwicklungsgeschichte der Pflanzenorgane. 1883.
15. Guignard, Recherches sur le sac embryonaire des Phanerogames angiospermes, Ann. d. Sc. nat. Ser. 6. 13. 1882.
16. Hall, An embryological study of Limnocharis emarginata. Bot. Gaz. XXXIII. 1902.
17. Holmgren, Zur Entwicklungsgeschichte von Butomus umbellatus. Svensk Botan. Tidskrift Bd. 7, 1. 1913.
18. Lötscher, P. K., Über Bau und Funktion der Antipoden in der Angiospermen-Samenanlage. Flora 94. 1905.
19. Lyon, H. H., Observations on the embryogeny of Nelumbo. Minnesota bot. stud. II. Part. 5. 1901.
20. Mottier, Contributions to the embryology of the Ranunculaceae. Bot. Gaz. 20, 1895.
21. Prantl, K., Beitrag zur Morphologie und Systematik der Ranunculaceen. Engl. Jahrb. 9. 1888.
22. Raciborski, Beiträge zur Kenntnis der Cabombeen und Nymphaeaceen. Flora 78. 1894. S. 244 ff. Flora 79. Ergb. S. 92 ff.
23. Riddle, Development of the Embryosac and Embryo of Batrachium. Ohio Nat. V, 8. 1905.

24. Sargant, E., The evolution of monokotyledons. Bot. Gaz. 37. 1904.

25. — A theory of the origin of Monokotyledons founded on the structure of their seedlings. Ann. of. Bot. 17. 1903.

26. Schaffner, J. H., Embryosac of Alisma Plantago. Bot. Gaz. XXI. 1896.

27. — Some morphological pecularities of the Nymphaeaceae and Helobiae. Ohio Nat. IV, 4. 1904.

28. Solereder, Systematische Botanik der Dicotyledonen.

29. Strasburger, Angiospermen und Gymnospermen. 1879.

30. — Beitrag zur Kenntnis von Ceratophyllum submersum. Pringsh. Jahrb. XXXVII, S. 510. 1902.

31. Ward, H. Marshall, A Contribution to our knowledge of the Embryosac in Angiosperms. Journ. of Linn. Soc. 1880. XVII.

32. Wettstein, R. R. v., Handbuch der systematischen Botanik. 1911.

33. Winkler, Hans, Über Parthenogenesis und Apogamie im Pflanzenreich. Progressus rei bot. II. 1908.

34. York, H. H., The embryosac of Nelumbo. Ohio Nat. IV, 8. 1904.

Die Abhängigkeit der Chlorophyllbildung von der Wellenlänge des Lichtes.

Von **Arnold Schmidt.**

(Mit Tafel III u. IV.)

I. Einleitung.

Bei der großen Rolle, die das Chlorophyll im Haushalte der Natur spielt, ist es nicht zu verwundern, daß schon seit langer Zeit dieses Pigment zum Gegenstand zahlreicher Untersuchungen gemacht worden ist, und auch heute gibt es eine Reihe von Gelehrten, die sich speziell mit dem grünen Farbstoff der Pflanzen beschäftigen. Ist doch der Ernährungsprozeß der gesamten Pflanzen- und Tierwelt an ihn gebunden; denn die heterotrophen Pflanzen und die Tiere bedürfen zu ihrer Ernährung der Nährstoffe, die sie aus mit Hilfe des Chlorophylls selbst assimilierenden Pflanzen ziehen.

Schon J. Ray (25)[1]) wußte, daß die Chlorophyllbildung in den allermeisten Fällen streng an Lichtzutritt gebunden ist, und spätere Forscher haben kaum daran gezweifelt. Die sichere Erkenntnis also, daß sich das Chlorophyll nur am Lichte bildet, legte die Frage nahe, welche Strahlen des Sonnenlichtes bei dem Prozeß am wirksamsten seien, mit andern Worten, welche Beziehung zwischen der Chlorophyllbildung und der Wellenlänge des Lichtes bestehe. Die meisten Forscher haben nun früher das Ergrünen der Pflanzen als gleichbedeutend mit der Chlorophyllbildung angesehen, während wir heute wissen, daß dieser Prozeß sich aus einer Reihe physiologisch-chemischer Vorgänge zusammensetzt, die sich teils nacheinander, teils nebeneinander abspielen, und von denen eben der letzte, und für uns allein bekannte, das Grünwerden der Pflanze ist. Als erster hatte wohl Daubeny (2) sich obige Frage vorgelegt, wobei er fand, daß hinter einer gelben Glasplatte die Pflanzen rascher ergrünten, als hinter einem Schirm, der von einer durchscheinenden Kupferlösung gebildet wurde. Später beschäftigte sich Gardner (5) mit einer derartigen Untersuchung, indem er etiolierte Keimlinge einem durch ein Flintglasprisma erzeugten objektiven Sonnenspektrum aussetzte. Es ergab

[1]) Die Zahlen beziehen sich auf das Literaturverzeichnis am Schluß der Arbeit. S. 288 ff.

sich, daß die gelben Strahlen wirksamer waren als die grünen und roten, während die violetten die geringste Wirksamkeit zeigten. Außer Glasprismen benutzte Guillemain (7) solche aus Quarz und Steinsalz. Nach seinen Untersuchungen sind nicht nur alle leuchtenden, sondern auch die ultraroten und ultravioletten Strahlen fähig, das Chlorophyll zu bilden, die wirksamsten sind jedoch die gelben und orangefarbenen Strahlen. Als nächster wäre dann Sachs (28) zu nennen, der das Ergrünen hinter zwei flüssigen Farbfiltern beobachtete. Als solche dienten ihm eine Lösung von doppelchromsaurem Kali und eine von Kupferoxydammoniak. Hinter beiden Schirmen ergrünten etiolierte Blätter von Triticum, Zea, Sinapis, Pisum und Lupinus gleichmäßig, während nur Keimlinge von Carthamus im orangefarbenen Lichte in gleichen Zeiten tiefer grün geworden waren als im blauen. Im Jahre 1874 veröffentlichte dann Wiesner (32) Resultate eingehender Untersuchungen über diesen Gegenstand, die besagen, daß „die am meisten leuchtenden Strahlen des Lichtes unter allen Anteilen des Sonnenspektrums nicht nur die höchste assimilatorische Kraft besitzen, sie sind es auch, welche das Ergrünen am raschesten bedingen und das Chlorophyll am kräftigsten zerstören." Bei großer Beleuchtungsstärke fand er, daß etiolierte Keimlinge hinter Kupferoxydammoniak schneller ergrünten, als hinter doppelchromsaurem Kali; bei geringer Beleuchtungsstärke unter Anwendung farbiger Filter stellte sich folgende Reihe für die Wirksamkeit beim Ergrünen heraus: Gelb, Grün, Rot, Blau; bei mittlerer Lichtintensität ergrünten die Keimlinge in allen Lichtarten annähernd gleich schnell. Eine Erklärung dieser verschiedenen Wirkung glaubt er darin zu finden, daß durch das intensivere Licht ein Teil des gebildeten Chlorophylls wieder zerstört wird. Ferner stellt er fest, daß „alle Teile des sichtbaren Sonnenspektrums die Fähigkeit haben, Chlorophyll zu bilden und zu zerstören", eine Behauptung, die er etwas später in einer umfangreichen Arbeit (33) dahin korrigierte, daß die Strahlen vom äußersten Rot bis zur Fraunhoferschen Linie a [$\lambda = 0{,}7185\ \mu$] nicht mehr zur Chlorophyllbildung befähigt sind, daß also die chlorophyllerzeugende Kraft des Lichtes erst im Rot, zwischen den Linien a und B [$\lambda = 0{,}687\ \mu$] beginnt und von hier an allen Strahlen des sichtbaren Spektrums innewohnt. Den leuchtenden Strahlen des äußersten Rot und den dunklen Wärmestrahlen jener Intensität, welche die Lebensprozesse ergrünender Pflanzenteile nicht zu gefährden vermögen, komme direkt nicht die Eignung, zur Entstehung des Chlorophylls zu führen, zu. Demgegenüber stellte Reinke (26) fest, daß alle leuchtenden Strahlen des Sonnenspektrums zwischen den Fraunhoferschen Linien A [$\lambda = 0{,}762\ \mu$] und H [$\lambda = 0{,}3968\ \mu$] etiolierte Keimlinge zum Ergrünen bringen können, doch in verschiedenem Maße. Die Strahlen des zwischen A und D [$\lambda = 0{,}589\ \mu$] gelegenen Spektral-

bezirkes erweisen sich als die weitaus wirksamsten, unter ihnen wird das Maximum der Wirkung in der Mehrzahl der Versuche deutlich zu beiden Seiten der Linie C [$\lambda = 0{,}65629\ \mu$] gefunden; von D sinkt die chlorophyllbildende Kraft gegen die Linie H, von B gegen die Linie A hin. Die ultraroten und ultravioletten Strahlen vermögen bei den von Reinke angewandten Lichtstärken [Gitterspektrum und Prismenspektrum] das Ergrünen nicht hervorzurufen. Ferner stellt Reinke fest, daß die Kurve der Wirksamkeit der Strahlen beim Ergrünen nicht zusammenfällt mit der Absorptionskurve des Etiolins, die Pringsheim (24) aufgestellt hat. Bezüglich der Wirkung der ultravioletten Strahlen auf die Chlorophyllbildung kam mit Hilfe der Quecksilberlampe Stoklasa (30) zu dem Resultat, daß diese Strahlengattung sehr wohl das Ergrünen bewirken kann, ja daß sie es sogar schneller hervorruft als das diffuse Tageslicht und dieses wieder bedeutend schneller als das direkte Sonnenlicht. Nach seiner Meinung kommt bei der Chlorophyllsynthese den Strahlen, die eine Wellenlänge von $\lambda = 575$ bis $\lambda = 300\ \mu\mu$ haben, die größte Wirksamkeit zu. Hier ist jedoch zu bemerken, und darauf hat Kluyver in neuester Zeit hingewiesen (10), daß bei allen Versuchen, bei denen Stoklasa nur mit Strahlen von $\lambda > 300\ \mu\mu$ rechnet, nicht zu vernachlässigende Mengen von Strahlen durchgelassen werden, deren Wellenlänge $\lambda < 300\ \mu\mu$ ja sogar $\lambda < 200\ \mu\mu$ ist.

Überblickt man alle diese Resultate, so kann man wohl Jost (9) recht geben, wenn er meint, das wir trotz der großen Literatur vorläufig außerstande sind, die Frage endgültig zu entscheiden, in welcher Beziehung die Wellenlänge des Lichtes zu seiner Wirkung auf das Chlorophyll steht.

Daß die Verfasser der ersten Arbeiten über die Chlorophyllbildung in verschiedenfarbigem Licht nicht zu gleichen Resultaten gelangt sind, liegt wohl zum größten Teil an der Verschiedenheit ihrer Arbeitsmethoden, wobei manche Unvollkommenheiten, die teilweise von bedeutendem Einfluß auf das Resultat sind, nicht übersehen werden dürfen. Dahin gehört in erster Linie die Berücksichtigung der Intensität der verschiedenen Strahlen. Wir wissen (12), daß die Energieverteilung im Gitterspektrum der Sonne eine Kurve darstellt, die im gelben Spektralbezirk ihr Maximum hat und nach beiden Enden des Spektrums hin fällt, um im Violett ihr Minimum zu erreichen. Finde ich also, daß die gelben Strahlen z. B. eine bestimmte Wirkung 20mal so schnell erzielen, als die blauen, so darf ich aus dieser Zeitdifferenz noch lange nicht den gelben eine 20mal so große Wirksamkeit zuschreiben als den blauen. Würde sich nämlich herausstellen, daß der blaue Spektralbezirk nur den 20. Teil der Energie des gelben Bezirkes hat, so waren beide Strahlengattungen gleich wirksam.

Nun hat man offenbar den Gedanken an ungleiche Energieverhältnisse erst gar nicht in Betracht gezogen, dann hatte man zunächst keine Methoden, auch nur ungefähr genaue Energiemessungen zu machen. Mit Hilfe der Thermosäule sind wir jetzt schon seit geraumer Zeit in der Lage, bei photochemischen Prozessen oder überhaupt bei Vorgängen, die von Lichtwirkungen abhängen, die Intensitätsverhältnisse zu prüfen und zu berücksichtigen. Kniep und Minder (11), sowie Meinhold (15) haben das mit Erfolg getan, und zwar bei Untersuchungen der Kohlensäureassimilation in verschiedenfarbigem Licht.

Für die Chlorophyllbildung liegt eine entsprechende Untersuchung nicht vor. Auch sind seit dem Erscheinen der letzten Arbeit, die sich mit der Chlorophyllbildung in verschiedenfarbigem Licht beschäftigt, nämlich der von Reinke (36), ungefähr zwei Jahrzehnte verflossen, in die die Entwicklung der Meßmethoden fällt, so daß eine erneute Behandlung der Frage notwendig schien, umsomehr als der Prozeß der Chlorophyllbildung in anderer Hinsicht neuerdings besser geklärt ist.

Da es in meinen Versuchen darauf ankam, die für die Chlorophyllbildung in einem Spektralbezirk notwendige Zeit zu ermitteln, mußte ein bestimmtes Stadium in diesem photochemischen Prozeß möglichst genau festgestellt werden. Das mit bloßem Auge sichtbare Ergrünen abzuwarten, erschien unsicher und langwierig. In der spektroskopischen Methode haben wir ein Hilfsmittel, schon die geringsten Spuren des Chlorophylls nachzuweisen. Daher wurde das erste Auftreten der deutlichsten Absorptionslinie des Chlorophylls als Fixpunkt gewählt und die bis zu diesem Schwellenwert verstreichende Zeit bestimmt. Die so für die Spektralbezirke gewonnenen Zeitwerte mußten dann auf gleiche Energie umgerechnet werden. Notwendig für die Untersuchung war daher Konstanz (oder doch Verfolgbarkeit der Schwankungen) der Lichtquelle und Gleichmäßigkeit des etiolierten Pflanzenmaterials.

II. Methodisches.

a. Lichtquelle.

Die Sonne konnte ich als Lichtquelle nicht verwenden, da sie, hauptsächlich durch Wolkenbildung beeinflußt, bei uns ein zu wenig konstantes Licht liefert, weshalb Kniep und Minder ihre Versuche in Neapel ausführten. Auch wissen wir, daß die Energie z. B. der blauen Strahlen vom Morgen nach dem Mittag zu wächst, von da an gegen den Abend hin wieder abnimmt, d. h. die Intensität in den einzelnen Spektralbezirken ändert sich beständig, es dürfen daher die Werte, die zu wesentlich verschiedenen Tageszeiten oder überhaupt

an verschiedenen Tagen gefunden werden, nicht ohne weiteres auf das Normalspektrum bezogen und untereinander verglichen werden. Auf diese Umstände, die gegen die Verwendung von spektralzerlegtem Sonnenlicht sprechen, haben Kniep und Minder (11) auch aufmerksam gemacht. Mir lag nur daran, die rein physiologische Wirkung der verschiedenfarbigen Strahlen zu untersuchen, ich konnte also schon aus diesem Grunde die Sonne als Lichtquelle unschwer missen. Ich benutzte daher eine Nernstlampe (Vertikalbrenner), die, wie die zahlreichen Energiemessungen zeigten, bei den endgültigen Versuchen ein ausreichend konstantes Licht lieferte. Es sei hierbei auf die Tabellen am Schluß verwiesen. Auch war die Lampe genügend lichtstark; denn zu starke Lichtintensitäten dürfen keine Verwendung finden, da wir von Monteverde (17) und Liro (13) wissen, daß die Chlorophyllbildung bei diffusem Tageslichte schon nach 5—10 Sekunden eintritt, und bei so kurzen Zeiten wäre eine genaue Bestimmung der Fixpunkte wohl kaum möglich gewesen.

Die Lampe war hängend in einem lichtsicheren Kasten untergebracht und nach drei Seiten hin von den Wänden des Behälters gleichweit entfernt. In jeder dieser Wände befand sich in Höhe der Lampe eine Öffnung, vor der mittels Schlitteneinrichtung die Lichtfilter angebracht wurden. Außerdem war jede Öffnung durch einen verschiebbaren schwarzen Pappstreifen lichtsicher abzuschließen.

Es handelte sich nun darum, verschiedenfarbiges Licht herzustellen. Die spektrale Zerlegung hat folgende Nachteile: Gitterspektren sind wegen ihrer allzu großen Lichtschwäche nicht gut zu verwenden. Prismenspektren aber zerstreuen wieder die kurzwelligen Strahlen bedeutend stärker als die langwelligen. Außerdem muß das Prismenspektrum, um es möglichst rein zu erhalten, durch einen sehr engen Spalt hindurchgehen, sodaß auch hier die Energie gering wird; also hätte das viel stärkere Sonnen- oder Bogenlicht Verwendung finden müssen. Sucht nun Reinke dem Übelstande der verschieden starken Zerstreuung der Strahlen durch seinen Spektrophor (27) abzuhelfen, so wird das Licht auch hier auf jeden Fall ganz bedeutend geschwächt. Die Lichtintensität durch Erweiterung des Spaltes zu erhöhen, bringt wiederum Unreinheit der Farben mit sich. Denn arbeitet man mit Spaltbreiten von 10—15 mm, wie das Reinke getan, so können die dadurch erhaltenen Spektren unter keinen Umständen Anspruch auf Reinheit machen.

Wegen der Schwierigkeiten, die bei der Verwendung von Prismen bestehen, verwandten Kniep und Minder (11) Farbfilter. Als solche dienten ihnen für Rot und Blau Schottsche Gläser, für Grün eins von den Nagelschen (21) flüssigen Strahlenfiltern, eine Mischung von Kaliummonochromatlösung mit Kupferoxydammoniak. Von den farbigen

Glasplatten liefern nur sehr wenige einfarbiges Licht, so lassen z. B. die grünen und blauen Scheiben stets einen Teil der roten Strahlen durch.

Ich benutzte daher flüssige Farbfilter, deren Vorzüge Nagel (21) und Meinhold (16) hervorgehoben haben, und die letzterer mit gutem Erfolg verwandt hat. Wenn diese Filter auch in der Intensität des durchgelassenen Lichtes große Unterschiede zeigen, so sind ihnen dafür zwei andre Vorzüge eigen: man hat einmal die Möglichkeit, sie innerhalb gewisser Grenzen auf einen bestimmten Strahlenbezirk abzustimmen, andrerseits tritt bei ihnen nicht eine so starke Erwärmung ein, wie bei farbigen Gläsern. Zur Herstellung der Farblösungen wurden fast ausschließlich organische Farbstoffe und Kupfersalze verwendet. Im allgemeinen hielt ich mich so weit wie irgend möglich an die Meinholdschen Filter, um der wünschenswerten Einigung bezüglich der Farbfilter bei solchen Untersuchungen nicht entgegenzuarbeiten.

In folgender Tabelle ist die Zusammensetzung der Strahlenfilter wiedergegeben, die durchgelassenen Spektralbezirke möge die beiliegende Tafel III veranschaulichen.

1 = farblos = dest. H_2O
2 = rot = Neutralrot in H_2O
3 = rot-gelb = Methylorange in H_2O
4 = orange-gelb = Methylorange in $CuSO_4$-Lösung
5 = gelb = Saffranin in $CuSO_4$-Lösung
6 = gelb-grün = Zettnowsches Filter = $K_2Cr_2O_7$-Lösung in konz. $CuSO_4$-Lösung
7 = grün = $CuCl_2$ in Alkohol + Chromsulfat (hergestellt durch Kochen einer Kaliumbichromatlösung mit Schwefelsäure und Alkohol)
8 = blaugrün = Säuregrün in H_2O + $CuSO_4$-Lösung
9 = blau = Berliner Blau in H_2O
10 = dunkelblau = Paramethylblau in $CuSO_4$-Lösung
11 = violett = Gentianaviolett in H_2O + $CuSO_4$-Lösung.

Wenn bei den Filtern 7, 8 und 11 zwei Flüssigkeiten durch das +-Zeichen verbunden sind, so soll damit gesagt sein, daß die beiden Lösungen nicht miteinander vermischt, sondern in getrennten Trögen hintereinander geschaltet wurden, um chemische Umsetzungen zu vermeiden.

Des Kupfersalzes $CuSO_4$ bediente ich mich immer, wenn es darauf ankam, das rote Ende des Spektrums auszulöschen.

Die Filter wurden sowohl vor wie nach Benutzung spektralanalytisch untersucht und zeigten bei den noch zu besprechenden Vorsichtsmaßregeln keine Veränderung. Bei Filter 5 z. B., das wenig

Licht durchläßt und somit bei der langen Versuchsdauer stark erwärmt wurde, kristallisierte an den Rändern der Küvette das Kupfersulfat aus; dadurch mußte natürlich eine Änderung des Spektralbildes hervorgerufen werden. Je konzentrierter die $CuSO_4$-Lösung, desto stärker war die Absorption im Rot. Also war es notwendig, ein Auskristallisieren des Salzes zu verhindern, was mir in den meisten Fällen dadurch gelang, daß ich über die Farblösung eine Schicht von Paraffinum liquidum goß. Ferner wurde auf genügende Ventilation an dem Apparat Wert gelegt, um eine übermäßige Erwärmung zu vermeiden. Zur Aufnahme der Flüssigkeiten dienten genau parallelwandige Küvetten [$100 \times 60 \times 20$ mm]. Durch Verwendung der flüssigen Farbfilter, die sich durch Bestrahlung bedeutend langsamer erwärmen wie farbige Gläser, waren auch für die kurze Dauer der Energiemessung die Wärmestrahlen schon ausgeschaltet.

Trotzdem könnte man den Vorwurf machen, daß die Messungen nicht mit den Versuchsbedingungen übereinstimmten, denn es dürfte die Erwärmung des Kastens usw. nicht vernachlässigt werden. Dem ist entgegen zu halten, daß, wie Wiesner (33) zeigte und wie aus meinen Versuchen zu ersehen, grade die dunkelroten Strahlen sehr unwirksam sind; für die thermoelektrischen Messungen kommen sie nicht in Betracht, da die Messungen am Anfang des Versuches gemacht wurden.

b. Energiebestimmung.

Um die von den verschiedenen Filtern durchgelassene Energie zu bestimmen, benutzte ich eine Wismut-Antimon-Thermosäule, die mir von Herrn Geheimrat Professor Dr. Dorn in freundlicher Weise zur Verfügung gestellt wurde. Die Thermosäule war in derselben Entfernung wie die Pflanzen von der Lichtquelle aufgestellt und stand mit einem Spiegelgalvanometer mit Fernrohrablesung so in Verbindung, daß dabei alle Fehler, die durch Luftströme, sekundäre Thermoströme oder Induktionsströme entstehen können, nach Möglichkeit vermieden wurden. So wurden sämtliche Drahtkoppelungen mit Lötpaste gelötet und alsdann mit Isolierband umwickelt und gegen Temperaturschwankungen gesichert. Ferner wurden die Drähte da, wo sie an den Wänden befestigt werden mußten, durch paraffinierte Glasröhren geleitet, die durch paraffinierte Korke liefen. Die Korke ihrerseits waren durch paraffinierte Bindfäden an der Wand so befestigt, daß der Kork und somit auch der Draht die Wand nicht berührte. Um das zu erreichen, wurden die Befestigungsstellen so gewählt, daß eine Anspannung des Drahtes eine Entfernung der Korke von den Wänden bewirkte. Selbstverständlich war dabei, daß sich die Drähte selbst auch nicht berühren durften.

Um Induktionsströmen, die durch Bewegung oder Erschütterung der Drähte entstehen können, zu entgehen, wurden die meisten Messungen in der Nacht ausgeführt. Hierzu veranlaßte mich noch ein weiterer Umstand: Die Thermosäule stand mit den Belichtungsapparaten in dem Dunkelzimmer, wo die Versuche ausgeführt wurden, während das Galvanometer und das Fernrohr im benachbarten hellen Laboratorium aufgestellt war. Das erwähnte Dunkelzimmer lag aber nach Süden, wurde also an heißen Tagen von der Sonne auf der einen Seite bedeutend erwärmt, während die Innentemperatur des Zimmers und die der übrigen Wände zurückblieb. Dieser Umstand wirkte natürlich störend, obwohl beim Vergleich zahlreicher Beobachtungen der Fehler auszuschalten gewesen wäre. Ich zog es vor, die Messungen dann vorzunehmen, wenn die Temperatur in den Arbeitsräumen gleichmäßig war; das traf in der warmen Jahreszeit für die ersten Morgenstunden zu.

Um die Thermosäule selbst vor äußeren störenden Einflüssen zu schützen, hatte ich sie, ähnlich wie Meinhold (16), in einer Holzkiste mit Watte verstopft untergebracht. Nach vorn war der Kasten mit einer doppelten Blechblende mit Ausschnitt an der Stelle, wo sich die Thermosäule befand, verschlossen. Auf den runden Ausschnitt war eine planparallele Glasplatte aufgekittet. Bei den Energiemessungen wurde zunächst der Stromkreis durch einen Quecksilberviernapf, der auch ein Wenden des Stromes ermöglichte, geschlossen und blieb es während des weiteren Experimentierens.

Schon jetzt gab es einen Galvanometerausschlag, der sich nach dem Entzünden der Lampe, das ich bald darauf in dem vorläufig noch vollständig lichtsicheren Kasten veranlaßte, kaum merklich oder garnicht änderte. Dieser meistens sehr kleine Ausschlag wurde notiert. Nach Entfernung der schwarzen Pappe, welche, um die Bestrahlung der Thermosäule zu hindern, zwischen das Filter und die Kastenöffnung geschoben war, verstärkte sich der Ausschlag zu einem neuen. Bei dieser neuen Einstellung des Galvanometers wurde der erste Ausschlag beobachtet. Der Unterschied der beiden notierten Skalenwerte war durch die Strahlen, die das Filter durchgelassen hatte, verursacht, er galt mir daher als Maß für die relative Energie.

Die Energie in absoluten Größen zu bestimmen, war nicht notwendig, da ich nur die Wirkungen verschiedener Farben vergleichen wollte. Die Energie ist proportional der Intensität des erzeugten elektrischen Stromes, und diese wieder steht in hier genügender Näherung in Proportion zu der Tangente des Ausschlagswinkels, d. h. also zu der mit dem Fernrohr abgelesenen Anzahl der Skalenteile, wenn der Skalenabstand konstant gehalten wird. Verglichen wurden alle Ausschläge mit dem bei Filter 1 (dest. H_2O) erhaltenen, mit dem

zahlreiche Kontrollbeobachtungen gemachtw urden. Filter 1 wurde mit einem Ausschlag von 100 angenommen, und alle andern Werte entsprechend umgerechnet.

Zur Orientierung über die Strahlenfilter, ihre durchgelassenen Strahlenbezirke, die Absorptionsminima derselben, und die relativen Energiewerte, mag folgende Tabelle I dienen; im übrigen sei auch

Tabelle I.

Filter	Farbe	Bezirk der durchgelassenen Strahlen	Minimum der Absorption	relative Energie	
				direkt	auf 100 bezogen
1	farblos	rot	violett	11,764	100
2	rot	äußerstes Rot —639	ca. 700—655	9,050	76,93
3	rot-gelb	718—546	690—590	8,688	73,85
4	orange-gelb	660—527	655—530	1,400	11,90
5	gelb	655—583	645—605	0,250	2,13
6	gelb-grün	617 – 518	605—530	0,340	2,89
7	grün	552—498	540—515	0,244	2,07
8	blau-grün	548—453	538—470	2,475	21,04
9	blau	524 – 431	515—440	0,526	4,47
10	dunkelbau	502—411	480—420	0,400	3,40
11	violett	467—400	455—410	0,360	3,06

hier auf die Spektraltafel verwiesen. Zur qualitativen Untersuchung der Farblösungen bediente ich mich des Spektrometers, die Stellen der Minima der Absorption sind geschätzt, können also auf objektive Genauigkeit keinen Anspruch machen. Die Wellenlänge λ ist in $\mu\mu$ ausgedrückt.

c. Bestimmung der Chlorophyllbildung.

Wie man eine Kurve am Anfange nur auf eine sehr kurze Strecke als Gerade auffassen kann, ebenso können wir uns denken, daß nur am Anfange die Wirksamkeit einer Lichtquelle auf die Chlorophyllbildung mit Sicherheit der Belichtungsdauer proportional angesehen werden kann, und zwar umgekehrt proportional. Es kam mir also darauf an, eine Methode zu finden, die mir gestattete, möglichst früh den Anfang der Chlorophyllbildung festzustellen. Es ist schon darauf hingewiesen worden, daß der Übergang von der Ausgangssubstanz zum Chlorophyll sich allmählich vollzieht. Diese allmähliche Umwandlung macht sich auch in den Spektralbildern alkoholischer Auszüge der Versuchspflanzen bemerkbar; auch dort finden wir eine schrittweise Veränderung. Als günstigstes Kriterium für den Beginn der Chlorophyllbildung erschien mir die erste deutlich wahrnehmbare Änderung nach dem Chlorophyllspektrum zu. Meine diesbezüglichen

Versuche bestätigten die Befunde von Monteverde und Lubimenko (19) einerseits, sowie die Angaben Marchlewskis (15) andrerseits. Wenn die beiden ersten Autoren das Auftreten eines Absorptionsbandes von $\lambda = 680$ μμ bis $\lambda = 660$ μμ angeben, während bei Marchlewski für dasselbe die Werte $\lambda = 675{,}0 - 660{,}0$ μμ gelten, so ist daraus die Identität beider Streifen noch nicht unbedingt zu bezweifeln. Kleine Unterschiede in der Belichtungszeit, ebenso in der Konzentration der alkoholischen Auszüge, machen die Abweichung erklärlich. Es handelt sich also offenbar um die Anfänge des ersten Chlorophyllbandes.

Die Chlorophyllbildung erklärte ich für begonnen, wenn sich bei $\lambda = 665$ μμ ein Streifen deutlich zeigte, während die Pflanzen selbst in diesem Falle nach dem äußeren Aussehen von etiolierten nicht zu unterscheiden waren. Bei den verhältnismäßig lichtstarken Filtern war es möglich, diesen Zeitpunkt bis auf die Minute genau zu bestimmen, bei lichtschwachen dagegen mußte ich mich damit begnügen, das Mittel zwischen weiter auseinander liegenden Werten zu nehmen. Wenn ich z. B. bei einer Belichtungsdauer von 6½ Stunden den Streifen zum erstenmal deutlich sah, so läßt sich denken, daß eine Verminderung der Belichtungszeit um eine oder zwei Minuten keinen bedeutenden Unterschied im Spektralbilde bewirkte. Ich ging dann in der Expositionszeit so weit herunter, bis ich deutlich nur das Spektrum sah, das alkoholische Auszüge etiolierter Pflanzen zeigen. Nehmen wir an, das trat bei 6 Stunden 10 Minuten ein, dann nahm ich als kritischen Zeitwert 6 Stunden 20 Minuten. In diesem Sinne sind die größeren Zeitwerte, die später erscheinen, bezüglich ihrer Genauigkeit aufzufassen.

d. Bestimmung der Wirksamkeit.

Die relative Wirksamkeit der einzelnen Filter zu bestimmen, wäre ein leichtes gewesen, wenn die von ihnen durchgelassene Energie eine konstante Größe gewesen wäre. Die Reziproken der kritischen Belichtungszeiten hätten dann einfach als Wirksamkeitswerte gelten können. Andrerseits war es nicht ohne weiteres zulässig, sämtliche Zeitwerte auf eine konstante Energiegröße umzurechnen, in der Annahme, daß die Energie proportional der Wirksamkeit sei. Liro (13) hat für weißes Licht schon nachgewiesen, daß die Chlorophyllbildung als rein photochemischer Prozeß den photochemischen Gesetzen gehorcht; sie ist der Lichtstärke und der Beleuchtungszeit proportional. Verschiedene Lichtstärken verschaffte sich Liro, indem er die Entfernung des Objektes von der Lichtquelle änderte. Da die Intensität mit dem Quadrate der Entfernung abnimmt, so mußte in doppeltem Abstand, d. h. bei dem vierten Teil der Energie, auch die Chlorophyll-

bildung viermal so langsam vor sich gehen, oder es mußten, um eine bestimmte Chlorophyllmenge zu erzielen, bei Pflanzen, von denen einige doppelt so weit entfernt waren von der Lichtquelle wie die übrigen, die ersteren viermal so lange belichtet werden als die andern. Seine Versuche bestätigten die vorangegangenen Betrachtungen in den Grenzen 1 : 4 : 9.

Nachdem ich mich von der Gültigkeit dieser Gesetze für weißes Licht überzeugt hatte (siehe Anhang), begnügte ich mich damit, ihre Gültigkeit auch für einige Farbfilter nachzuweisen. So hatte ich z. B. bei Filter 3 (rotgelb) in der Entfernung von 1,30 m den Beginn der Chlorophyllbildung bei 5½ Minuten gefunden, bei doppeltem Abstand sah ich bei 20 und 21 Minuten Belichtungszeit den Streifen nicht, während er bei 25 Minuten sehr deutlich, bei 23 Minuten aber auch noch gut zu sehen war. Andrerseits hatte sich bei Filter 6 (gelb-grün) als kritische Zeit ergeben: 2 Std. 28 Min. = 148 Minuten. Sollte der Wert und die Gesetze ihre Gültigkeit haben, so durfte, wenn die Pflanzen in halber Entfernung aufgestellt waren, bei 35 Minuten Belichtung noch nichts von Chlorophyll wahrzunehmen sein, während ein Versuch mit 40 Minuten Belichtungszeit die Bildung des Farbstoffs deutlich zeigen mußte. Das war in der Tat der Fall. Auch bei 36 Minuten zeigte sich noch nichts, während bei 38 Minuten der Streifen schon deutlich zu sehen war. Auch das Galvanometer ergab immer den Ausschlag, der nach der Entfernungsänderung zu erwarten war. In manchen Fällen begnügte ich mich mit angenäherten Kontrollversuchen. So war es mir nun gestattet, alle Zeitwerte auf gleiche Intensität umzurechnen, indem ich das Produkt aus Zeit und Energie bildete; aus den so erhaltenen Zahlen läßt sich die relative Wirksamkeit erkennen. Zu berücksichtigen ist, daß derjenige Spektralbezirk, dem auf diese Weise der größte Wert zufällt, der unwirksamste ist. Diese Ergebnisse setzten mich auch instand, bei lichtschwachen Filtern die Intensität auf das Vierfache zu erhöhen, indem ich die Pflanze in der halben Entfernung von der Lampe aufstellte.

III. Die Versuche selbst und ihre Resultate.

Am Anfange der Untersuchungen handelte es sich darum, für die im wesentlichen festgelegte Methode möglichst günstiges Material zu finden. Avena sativa, Triticum sativum, Hordeum sativum, Zea Mais, Brassica Napus, Lepidium Draba, Cochlearia officinalis, Erysimum cheiranthoides und verschiedene Phaseolus-Arten wurden auf ihr Verhalten im Etiolement untersucht; zugleich wurde dieses Material zu Ergrünungsversuchen benutzt, welche die erste Änderung im Spektrum des alkoholischen Auszuges etiolierter Pflanzen nach dem Chlorophyllspektrum zu bestimmen sollten. In dieser Hinsicht lieferten alle

Pflanzen dasselbe Resultat, was auch vorauszusehen war; denn wie Müllermeister (20) hervorhebt, ist die Einheit des Chlorophylls in sämtlichen Pflanzen von den meisten Forschern, von Brewster bis Willstätter, hinreichend begründet. Auch Liro (13) meint, daß, wie die Sache zurzeit liege, es kaum zu bezweifeln sei, daß in den Dunkelkeimlingen der verschiedensten Phanerogamen ein und derselbe Stoff, das Leukophyll, im Lichte dasselbe Chlorophyll liefern. Wenn nun auch nicht alle Pflanzen gleich schnell ergrünen, so wird trotzdem bei jeder derselbe Strahlenbezirk der wirksamste sein. Von allen oben angeführten Gramineen und Kruziferen erwies sich nur Zea Mais als gut verwendbar. Auch Phaseolus bildete für seine Größe zu wenig Blattsubstanz. Ich beschränkte mich also auf Zea Mais und zwar auf eine große amerikanische Sorte, Pferdezahnmais (Haage und Schmidt, Erfurt). Die Samen wurden zwei Tage gewässert, auf feuchtes Fließpapier gebracht, wo sie ca. 2—3 Tage ankeimten, und schließlich in mit feuchten Sägespänen gefüllte Töpfe gesteckt, die Töpfe standen in einem lichtsicheren Dunkelschrank, der sich im Dunkelzimmer befand. Auch die Vorbehandlung fand im Dunkeln statt, nur wurde während des Transportes der Samen vom Wasser auf das Fließpapier, ebenso wie beim Stecken in die Töpfe die photographische rote Lampe angezündet, deren Licht durch mehrere Schichten Pergamentpapier so stark abgeschwächt war, daß bei der ohnedies meistens noch garnicht oder nur winzig entwickelten Plumula eine Gefahr für die Korrektheit der Versuche nicht bestand. Bei völliger Dunkelheit wurden die Töpfe in den Dunkelschrank gebracht. Im Dunkelzimmer herrschte ständig, also auch bei den Versuchen eine durchschnittliche Temperatur von 20° C. (18° — 23° C.). Sachs (29) und Wiesner (33) hatten nämlich gefunden, daß die Chlorophyllbildung von der Temperatur des umgebenden Mediums abhänge. Elfving (3) bestätigte die Ergebnisse, und man glaubte auch allgemein daran (23). Wenn nun in neuerer Zeit Liro (13) und Issatschenko (8) zeigten, daß auch bei niedrigen Temperaturen (— 1° und — 8° C.) die Chlorophyllbildung von der Lichtstärke und der Beleuchtungszeit in derselben Weise abhängt wie bei Temperaturen zwischen 18° C. und 24° C., so erschien es auf jeden Fall vorteilhafter, für eine ungefähr konstante Temperatur Sorge zu tragen.

Ungefähr 20 Tage altes Material wurde in einer Entfernung von 1,30 m von der Lichtquelle an einem Stativ durch Umkehrung der Töpfe so angebracht, daß die einzelnen Pflanzen, die durch das lange Etiolement eine starke Verlängerung erfahren hatten und wegen der geringen Festigkeit nicht aufrecht stehen konnten, senkrecht herunter hingen. Nachdem das Material in völliger Dunkelheit dem Schrank entnommen und auf obige Art befestigt war, wurde die

Lampe im lichtsicheren Kasten zum Erglühen gebracht. Sobald sie brannte, erfolgte die Beobachtung des Galvanometerausschlages zum erstenmale. Nun entfernte ich den Schieber an der Öffnung des Kastens, vor welcher das Farbfilter stand, wobei der Zeitpunkt notiert wurde. Es folgte die zweite Ablesung am Galvanometer. Die kritischen Zeitwerte zu bestimmen, wurde folgendermaßen verfahren. Ich belichtete beispielsweise zunächst 3 Std., 2 Std. und 1 Std., eventuell noch $^1/_2$ Std. Zeigte sich bei der Untersuchung über die Wirkung von $^1/_2$ Std. und 1 Std. Belichtungszeit noch nichts, während bei 2 Std. und 3 Std. der Absorptionsstreifen sehr deutlich war, so wurden nunmehr Versuche angestellt, wo die Pflanzen $1^3/_4$ Std., $1^1/_2$ Std. und $1^1/_4$ Std. der Einwirkung des Lichtes ausgesetzt waren. Indem ich also die Grenzen, innerhalb deren der kritische Punkt liegen mußte, immer mehr einengte, kam ich am sichersten zum Resultat.

Nach der Belichtung fand die weitere Behandlung des Materials wieder in völliger Dunkelheit statt. In einem abtarierten, lichtsicheren Beutel, in dem sich eine ziemlich lichtsichere Schachtel für photographische Platten befand, wurden die Blätter gewogen, alsdann in kochendes Wasser gebracht. Die wenigen Minuten des Abwägens kommen für die Nachwirkung einer photochemischen Induktion nicht in Betracht, da ja Liro (13) nachgewiesen hat, daß eine merkliche photochemische Induktion bei der Chlorophyllbildung nicht vorkommt, eine Ansicht, die auch Monteverde (18) teilt. Nach Abgießen des Wassers zerrieb ich die Blätter in einer Reibschale und schüttete das Material in ein Extrahierrohr, in dem sich so viel heißer 94%iger Alkohol befand, daß auf 1 gr Blattsubstanz 10 cbcm Alkohol kamen. Die so bereiteten Chlorophyllauszüge, die unter Sauerstoffabschluß im Dunkeln aufbewahrt wurden, untersuchte ich nach ihrem Filtrieren gewöhnlich am nächsten Tage in einem Rohr, das 10 cm lang und an beiden Enden mit aufgekitteten Glasscheiben verschlossen war. Durch die Länge des Rohres vergrößerte sich die Schichtdicke, erhöhte sich also die Empfindlichkeit der Methode.

Indem ich alle Gefäße, mit denen die alkoholischen Auszüge in Berührung kamen, nach jeder Benutzung mit Alkohol gründlich reinigte, beugte ich irgend welchen Fehlern, die durch Unsauberkeit der Instrumente leicht entstehen können, ein für allemal vor.

Die Resultate von ca. 350 Versuchen sind in folgender Tabelle II zusammengestellt. Reihen III und IV geben darin die Zeitwerte mit den Versuchsbedingungen an, während Zeile V die auf gleiche Entfernung (130 cm) umgerechneten Zeitgrößen enthält. Zeile VI zeigt die schon bekannten Energiegrößen. Aus der Multiplikation ihrer Größen mit den entsprechenden der Zeile V und aus Division der Resultate durch 100 gehen die relativen Wirksamkeitswerte in Zeile VII hervor.

Tabelle II.

I	Filter Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
II	Farbe	weiß	rot	rot-gelb	orange-gelb	gelb	gelb-grün	grün	blau-grün	blau	dunkel-blau	violett
III	Entfernung in cm	130	130	130	130	65	130	65	65	65	130	65
IV	Zeitwert in Minuten	4	220	5,5	62	340	148	> 1020	495	870	152	305
V	Zeitwert bei 130 cm Entfg.	4	220	5,5	62	1360	148	> 4080	1980	3480	152	1220
VI	relat. Energie	100	76,93	73,85	11,90	2,13	2,89	2,07	21,04	4,47	3,40	3,06
VII	Wirksamkeit bezogen auf Energie 100	4,0	169,2	4,0	7,4	28,9	4,3	>84,5	416,6	155,6	5,2	37,3

Tabelle III.

Filter Nr.	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Abszisse x	677,5	640,0	592,5	620,0	567,5	527,5	505	477,5	450	432,5
Ordinate y	2,95	123,1	67,5	17,25	116,5	<5,92	1,2	3,22	96,15	13,40

Diese Werte habe ich versucht graphisch darzustellen; auf der Abszissen- oder x-Axe sind die Wellenlängen eingetragen, auf der Ordinate y die relativen Wirksamkeitswerte. Dabei gilt als Endpunkt der Abszisse eines Wertes die Mitte des Minimums der Absorption für den betreffenden Spektralbezirk, als Ordinate der Quotient aus 500 und dem aus obiger Tabelle ersichtlichen Wirksamkeitswerte. Die so berechneten Koordinaten seien hier zusammengestellt (Tabelle III). Unter Benutzung dieser Werte ergibt sich die beiliegende Figur (Tafel IV, Fig. 1).

Die Kurve zeigt ein deutliches absolutes Minimum im grünen Spektralbezirk, ein relatives ungefähr bei $\lambda = 620$ $\mu\mu$, während das absolute Maximum am langwelligen Ende des Spektrums, ein weiteres relatives im Blau zu finden ist.

IV. Schlußfolgerungen.

Um aus obigen Resultaten brauchbare Schlüsse zu ziehen, müssen wir auf die Chlorophyllbildung überhaupt eingehen. Dabei stoßen wir auf eine Spaltung der Ansichten. Eine Reihe von Forschern, zu denen auch Liro gehört, lassen das Chlorophyll aus einer farblosen Muttersubstanz, dem Leukophyll entstehen, während andere, unter

ihnen Monteverde und Lubimenko, zunächst die Bildung eines gefärbten Stoffes, des Chlorophyllogens, aus farblosen Verbindungen annehmen, der dann als die Stammsubstanz des Chlorophylls anzusehen sei. Dementsprechend gehen auch die Ansichten über das Ergrünen einiger Pflanzen, z. B. der Koniferenkeimlinge im Dunkeln auseinander. Zu entscheiden, welche Ansicht die richtige ist, dürfte vorläufig nicht möglich sein. Bei unsrer sicheren Erkenntnis jedoch, daß die meisten Pflanzen nur im Licht Chlorophyll bilden, erscheint es unzweckmäßig, die so seltene Erscheinung, daß der Farbstoff unter Lichtabschluß gebildet wird, als das Gewöhnliche, und die überwiegend große Anzahl der Fälle, wo Licht zum Ergrünen notwendig ist, als Ausnahmefälle hinzustellen, wie es Monteverde und Lubimenko (19) zu beabsichtigen scheinen. Bei ihnen müssen wir uns mehrere unbekannte chemische Agentien denken, die das Chlorophyllogen in Chlorophyll umwandeln sollen und die denjenigen Pflanzen fehlen sollen, welche bei Lichtabschluß nicht ergrünen, sodaß das Licht garnicht als Chlorophyllbildner erscheint, während Liro für das Ergrünen im Dunkeln die Wirkung nur eines Katalysators annimmt, vorausgesetzt, es handelt sich um dasselbe Chlorophyll, und die Entwicklung von der Muttersubstanz zu ihm ist dieselbe wie bei Pflanzen, die bei ihrem Grünwerden auf die Wirkung des Lichtes angewiesen sind. Welchen Nutzen bringt jene Theorie, wenn sie durch die Einführung mehrerer neuer völlig unbekannter, vorläufig nur gedachter Fermente die endgültige Lösung der ganzen Frage in noch größere Entfernung rückt? Schon aus diesem Grunde möchte ich mehr zu Liros Ansicht hinneigen; und auch durch meine Untersuchungen fühle ich mich in der Ansicht bestärkt, daß die Chlorophyllbildung ein rein photochemischer Prozeß ist, womit gesagt sein soll, daß das Licht direkt auf die Ausgangssubstanz und später auf das Chlorophyll selbst wirkt.

Daß dieser Vorgang dem Gesetze vom photochemischen Effekt (22) gehorcht, hat sich für weißes Licht aus Liros und für die einzelnen farbigen Strahlengruppen aus meinen Versuchen ergeben (cf. S. 279). Ein weiteres photochemisches Gesetz betrifft die Beziehung zwischen optischer und chemischer Extinktion (22): Diejenigen Lichtstrahlen werden absorbiert, welche chemische Wirkungen hervorbringen, und umgekehrt, nur solche Strahlen können chemisch wirken, welche absorbiert werden. Nun kennen wir ja leider das Leukophyll, d. h. die Stammsubstanz des Chlorophylls, nicht genauer. Wir wissen nur, daß es, bei Abtötung der lebenden Blätter oder mit Alkohol behandelt, das Protochlorophyll liefert. Man könnte trotzdem zu einem gewissen Urteil kommen, welche Strahlen nach obigem Gesetz wirksam sein müßten, wenn man folgender Überlegung Raum gäbe: Das Leukophyll gilt als farblos, jedenfalls wissen wir über seine Absorption nichts.

Wir können deshalb auch nichts darüber aussagen, welche Strahlen im allerersten Anfange der photochemischen Chlorophyllbildung wirksam sind. Sobald aber die ersten Spuren von Chlorophyll vorhanden sind, was wir mit unsern technischen Mitteln noch nicht wahrnehmen können, und was offenbar sehr schnell eintreten wird, so kommt für das ganze photochemische System vorwiegend die Absorption durch das Chlorophyll selbst in Betracht. Infolgedessen mußten diejenigen Strahlen, die vom Chlorophyll absorbiert werden, sich schließlich doch als die wirksamsten erweisen.

Die Erscheinung einer Autokatalyse bei photochemischen Prozessen, wo die Absorptionsverhältnisse des im Licht zu bildenden Farbstoffes auf die Wirksamkeit der verschiedenen Strahlengattungen von Einfluß sind, ist jedenfalls nicht von vornherein als etwas Außergewöhnliches von der Hand zu weisen. Denn schon Gros (6) ist durch seine Untersuchungen über die photochemische Zersetzung von Leukobasen zu dem Ergebnis gekommen: „Es ist in hohem Grade wahrscheinlich, daß die Fähigkeit der Farbstoffe, katalytisch zu wirken, durch Lichtabsorption erregt wird. Infolgedessen erstreckt sich die Farbenempfindlichkeit der Leukobasen nicht nur auf die Strahlen, die von den Leukobasen selbst absorbiert werden, sondern auch auf solche, die von dem entstehenden Farbstoffe absorbiert werden."

Das Maximum der Wirksamkeit wäre theoretisch im Rot bei $\lambda = 670 - 650$ μμ zu erwarten. Bei meiner Kurve liegt es ungefähr bei $\lambda = 640$ μμ. Jedoch darf nicht vergessen werden, daß das rote Filter, welches den Spektralbezirk des ersten Chlorophyllbandes enthält und demnach die größte Wirkung hätte zeigen müssen, außerdem sehr viele langwellige Strahlen enthält, die, wenn nicht schädigend, so doch sehr unwirksam und sehr energiereich sind. Auch wenn im Filter 3 (rotgelb), dessen Absorptionsminimum von $\lambda = 690 - 590$ μμ reicht, die Mitte dieser Spektralregion zur Fixierung des Wirksamkeitswertes genommen wird, so braucht die Lage des Punktes durchaus nicht mit der Wirklichkeit übereinzustimmen. Im Gegenteil, es ist sehr wohl denkbar, daß die roten Strahlen dieses Bezirkes weit wirksamer sind als die gelben (siehe Resultate), sodaß sich die Lage des Maximums voraussichtlich nach rot verschieben würde. Außerdem ist Filter 3 doppelt so wirksam als Filter 4, so daß die Stelle größter Wirksamkeit höchst wahrscheinlich am langwelligen Ende von 4 zu suchen ist. Leider sind die Filter der minder brechbaren Hälfte des Spektrums in bezug auf Ausdehnung ziemlich ungleich, am unangenehmsten fallen jedoch die ungeheuren Unterschiede in ihren Energiegrößen auf.

Betrachtet man dagegen die Filter 9, 10, 11, so zeigen sie alle drei annähernd gleiche Energie, während zugleich ihre Ausdehnungen

auf das Normalspektrum bezogen auch keine größeren Unterschiede aufweisen. Trotzdem finden wir ein deutliches Maximum zwischen den Fraunhoferschen Linien F und G, in der Nähe von $\lambda = 450$ μμ, von wo aus die Kurve nach beiden Seiten abfällt. Wichtig ist ferner, daß das grüne Filter (Nr. 7) nach 17 Stunden Belichtung in halber Entfernung noch keine Chlorophyllbildung veranlassen konnte.

Über die Absorption des Lichtes durch das Chlorophyll gibt uns am besten Aufschluß das soeben erschienene Werk von Willstätter und Stoll (34), dem das beiliegende (Tafel IV, Fig. 2) Absorptionsspektrum der Chlorophyllkomponenten b entnommen ist. Leider findet sich in dem Buche kein ebenso anschauliches Bild von den Absorptionsverhältnissen des gesamten Chlorophylls, wie es in Tafel VIII des genannten Werkes für die beiden Komponenten des Farbstoffes gegeben ist. Große Unterschiede zeigen die Absorptionsspektra derselben nicht; daher begnügte ich mich mit der Wiedergabe des Absorptionsspektrums der Komponente b. Wenn auch die Komponente a das I. Absorptionsband bei $\lambda = 660$ μμ sehr deutlich zu erkennen gibt, so eignet sich doch die beigefügte Abbildung in mancher andern Hinsicht besser zum Vergleich mit meiner Kurve. Natürlich habe ich beide Absorptionsspektra meinen Resultaten gegenübergestellt, und es ergab sich eine weitgehende Übereinstimmung zwischen Absorption und Wirksamkeit.

Gehen wir vom Rot zum Blau, so wäre zunächst durch die minimale Absorption bei ca. $\lambda = 690$ μμ die geringe Wirksamkeit der äußersten roten Strahlen, also des Filters 1 zu erklären. Über die Lage des absoluten Maximums ist oben schon das Nötige gesagt; auch hier besteht eine annähernde Übereinstimmung mit der Lage des Absorptionsmaximums. Der schwachen Wirkung der gelben Strahlen entspricht die geringe Auslöschung bei $\lambda = 620$—630 μμ. Alsdann verstärkt sich nach dem kurzwelligen Ende des Spektrums zu die Absorption, was der steigenden Wirksamkeit bei Filter 4 und 6 entsprechen würde, um im Grün also in der Nähe von $\lambda = 500$ μμ ein Minimum zu erreichen. Auch bei meinen Versuchen zeigten sich die grünen Strahlen am wenigsten wirksam. Sehr deutlich macht sich jedoch ein Parallelismus zwischen Absorption und Wirksamkeit bei der Chlorophyllbildung im stärker brechbaren Teile des Spektrums bemerkbar. Hier ist noch hervorzuheben, daß nach Willstätter und Stoll auch die Absorption der Strahlen nach dem Violett zu wieder abnimmt, während man bisher nach Engelmanns (4) Messungen ein weiteres Steigen der Absorptionskurve vom blauen nach dem violetten Strahlenbezirk hin annahm.

Wenn wir die gewonnenen Resultate zunächst einmal überblicken, so können wir sie kurz dahin formulieren: Der rote und der blaue

Spektralbezirk zeigen eine auffallend maximale Wirkung, während das Minimum der Wirksamkeit im Grün liegt. So gefaßt, tritt eine Analogie zutage zwischen meinen Ergebnissen und denen von Kniep und Minder (11) sowie Lubimenko (14) für die Assimilation der Kohlensäure. Wenn jene beiden Forscher auch bei gleicher Energie gleiche Assimilation im Blau und Rot gefunden haben, so ändert das einerseits an der Ähnlichkeit der Resultate nichts, andrerseits hat Meinhold (16) schon darauf hingewiesen, daß es sehr wohl innerhalb desselben Strahlenbezirkes Unterschiede in der Assimilation geben könne. Lubimenko findet, daß rotes Licht den stärksten assimilatorischen Effekt zeigt, im Blau und Orange ist er etwas schwächer, das Minimum liegt im Grün. Man könnte also daraus schließen, daß dieselben Strahlen, die beim Aufbau des Chlorophylls am meisten beteiligt sind, im wesentlichen auch assimilatorisch die wirksamsten sind.

Die geringe Wirkung des grünen Filters, die doch recht auffällig ist, könnte man damit begründen, daß es die geringste Intensität im Vergleich mit den andern besäße. Doch weicht seine relative Energiegröße so wenig von der andrer, z. B. des Filters 5, ab, daß ich glaubte, die grüne Farbe des Chlorophylls für die schwache Wirkung der grünen Strahlen verantwortlich machen zu dürfen. Der Farbstoff erscheint eben grün, weil er die grünen Strahlen neben einigen anderen durchläßt, die komplementären nicht. Sollte nun meine Annahme, daß nur diejenigen Strahlen bei der Bildung des Chlorophylls sich als wirksam erweisen, die von ihm absorbiert werden, richtig sein, so dürfte hinter einem alkoholischen Chlorophyllauszug kein Ergrünen stattfinden. Diesen Versuch habe ich gemacht: Eine konzentrierte alkoholische Lösung von Chlorophyll wurde als Schirm benutzt. Versuche mit 6, 12 und 19 Stunden Belichtung bei halber Entfernung (65 cm) zeigten noch keine Chlorophyllbildung. Dabei wurde die Lösung häufiger erneuert, da bei zu langer Bestrahlung eine Zersetzung des Farbstoffes zu befürchten war. Wenn also die Lichtgattungen, die ein Chlorophyllauszug durchläßt, in 76 Stunden, bei gewöhnlicher Entfernung (130 cm) nicht imstande sind, wahrnehmbare Spuren von Pflanzengrün zu bilden, so erwiesen sie sich eben als die unwirksamsten, wenn ihnen nicht jede chlorophyllbildende Kraft abzusprechen ist. Zu dem letzten Schluß berechtigen die vorliegenden Ergebnisse nicht, da noch nicht erwiesen ist, daß die betreffenden Lichtregionen auch bei längerer Einwirkung auf die Pflanze unwirksam bleiben.

Ähnliche Erscheinungen sind schon verschiedentlich beobachtet worden. So hat z. B. Dangeard (1) gezeigt, daß Chlorella am besten wuchs an der Stelle des ersten Chlorophyllbandes, d. h. bei 640—670 μμ, wie er angibt. Bezüglich der Wirkung des Lichtes auf Pflanzenfarbstoffe hat er gezeigt, daß bei der Einwirkung eines

Spektrums auf eine Glasplatte, bestrichen mit Kollodium, die in das Chlorophyll eingebettet war, die Entfärbung zuerst bei dem ersten Chlorophyllband eintrat.

Zu interessanten Resultaten ähnlicher Natur kam auch Wager (31). Seine Untersuchungen lassen ihn zu dem Schluß kommen, daß bei der heliotropischen Reaktion der Blätter diejenigen Strahlen aktiv sind, die von dem Chlorophyll absorbiert werden. Schaltete er einen Chlorophyllschirm zwischen die Blätter und das Licht, so hörte die heliotropische Reaktion entweder überhaupt auf, oder war stark reduziert.

Zur endgültigen Lösung der Frage, wie die Chlorophyllbildung von der Wellenlänge des Lichtes abhängt, müssen wir unbedingt die Wirkung der verschiedenen Lichtqualitäten bei derselben Energiegröße vergleichen. Dieses Ziel zu erreichen, wird im wesentlichen davon abhängen, ob wir imstande sein werden, entweder die Strahlenfilter so weit zu vervollkommnen, daß wir das Spektrum in zahlreiche sehr schmale Bezirke auflösen können, die aber noch eine hinreichende Lichtstärke besitzen, oder auf irgend eine Weise reine Spektren zu gewinnen, die trotz ihrer Reinheit auch noch genügend lichtstark sind.

Dieses Ziel steht noch in weiter Ferne.

Die Frage endgültig zu lösen, konnte daher nicht Zweck der vorliegenden Arbeit sein. Soviel haben aber die Untersuchungen gezeigt, daß bei der Chlorophyllbildung ebenso, wie es bereits von Kniep und Minder für die Assimilation nachgewiesen war, den blauen Strahlen eine größere Bedeutung zukommt, als bisher angenommen wurde, und daß die Wirksamkeit der einzelnen Lichtqualitäten bei diesem Prozeß einen auffälligen Parallelismus zeigt zur Absorption der Strahlen durch das Chlorophyll einerseits und zu ihrer assimilatorischen Wirkung andrerseits.

Literaturnachweis.

1. P.-A. Dangeard, Notice sur les travaux scientifiques de M. P.-A. Dangeard. Le Botaniste, série XII. 1912.
2. Ch. Daubeny, On the Action of Light upon Plants and of Plants upon the Atmosphere. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. 1836. Bd. I.
3. F. Elfving, Über eine Beziehung zwischen Licht und Etiolin. Arb. d. bot. Inst. in Würzburg. 1880. Bd. II. Heft 3.
4. Th. W. Engelmann, Untersuchungen über die quantitativen Beziehungen zwischen Absorption des Lichtes und Assimilation in Pflanzenzellen. Botanische Zeitung 1884. Bd. 42.
5. J. S. Gardner, Über die Wirkung des gelben Lichts bei Erzeugung der grünen Farbe der Pflanzen, sowie die Wirkung des indigofarbenen Lichtes in betreff ihrer Bewegung nach dem Lichte. Neue Notizen aus dem Gebiete der Natur- und Heilkunde von Ludwig Friedrich und Robert Froriep. 1844. Bd. XXX. Nr. 11.
6. O. Gros, Über die Lichtempfindlichkeit des Fluoresceins, seiner substituierten Derivate, sowie der Leukobasen derselben. Zeitschrift f. phys. Chemie. 1901. Bd. 37.
7. A. Guillemain, Production de la chlorophylle, et direction des Alges sous l'influence des rayons ultra-violets, calorifiques et lumineux du spectre solaire. Annales des sciences naturelles 1857. T. VII.
8. B. Issatschenko, Sur les conditions de la formation de la chlorophylle. III. Resumé. Bull. jard. imp. St. Pétersbourg. 1909. T. 9.
9. L. Jost, Vorlesungen über Pflanzenphysiologie. 3. Aufl. Jena 1913.
10. A. J. Kluyver, Ist man berechtigt, die mit dem ultravioletten Licht der Heräuslampe erzielten photochemischen Ergebnisse auf die bei der Pflanze im Sonnenlicht vor sich gehenden Prozesse ohne weiteres zu übertragen? Östr. Bot. Ztschrft. 1913. Bd. LXIII.
11. H. Kniep und F. Minder, Über den Einfluß verschiedenfarbigen Lichtes auf die Kohlensäureassimilation. Zeitschr. f. Bot. 1909. Bd. I.
12. S. P. Langley, La distribution de l'énergie dans le spectre normal. Annales de chimie et de physique 1882. V. Ser. Bd. 25.
13. I. Liro, Über die photochemische Chlorophyllbildung bei den Phanerogamen. Annales Academiae scientiarum fennicae. 1908. Ser. A. Tom. I. Nr. 1.
14. W. Lubimenko, L'assimilation chlorophyllienne et la production de la substance sèche à la lumière blanche et à la lumière colorée. Rév. gén. bot. 1911. Bd. 23.

15. L. Marchlewski, Die Chemie der Chlorophylle und ihre Beziehung zur Chemie des Blutfarbstoffes. Braunschweig 1909.

16. Th. Meinhold, Beiträge zur Physiologie der Diatomeen. Beiträge zur Biologie der Pflanzen. 1910. Bd. X.

17. N. Monteverde, Über das Protochlorophyll. Acta Horti Petropolitani, 1894. Vol. XIII.

18. N. Monteverde, Das Protochlorophyll. Bull. jard. imp. St. Pétersbourg. 1902. T. II.

19. N. Monteverde und W. Lubimenko, Untersuchungen über die Chlorophyllbildung bei den Pflanzen. Biol. Centralbl. 1911. Bd. 31.

20. W. Müllermeister, Über die Absorption des Chlorophylls und seiner Derivate. Zeitschr. für wissenschaftl. Photographie, Photophysik und Photochemie. 1907. Bd. 5.

21. W. Nagel, Über flüssige Strahlenfilter. Biol. Centrlbl. 1898. Bd. 18.

22. W. Ostwald, Lehrbuch der allgemeinen Chemie. 2. Aufl. Bd. II. 1. Leipzig 1893. Dort weitere Litt.

23. W. Pfeffer, Pflanzenphysiologie. 2. Aufl. Bd. I. 1897.

24. N. Pringsheim, Über die Absorptionsspektra der Chlorophyllfarbstoffe. Monatsber. d. Kgl. Akad. d. Wiss. zu Berlin. Okt. 1874.

25. J. Ray, Historia planterum. 1686. Bd. V. 1.

26. J. Reinke, Die Abhängigkeit des Ergrünens von der Wellenlänge des Lichtes. Sitzgsber. d. Kgl. Akad. d. Wiss. zu Berlin. 1893. Bd. II.

27. J. Reinke, Untersuchungen über die Einwirkung des Lichtes auf die Sauerstoffausscheidung der Pflanzen. 2. Mitteilg. Bot. Ztg. 1881. Bd. 42. Ebenso Reinke siehe Nr. 26.

28. J. Sachs, Wirkungen farbigen Lichts auf Pflanzen. Bot. Ztg. 1864.

29. J. Sachs, Über den Einfluß der Temperatur auf das Ergrünen der Blätter. Flora 1864.

30. J. Stoklasa (unter Mitwirkung von Emanuel Senft, Franz Stránák und W. Zdobnický), Über den Einfluß der ultravioletten Strahlen auf die Vegetation. Sitzgsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. zu Wien 1911, math.-nat. Kl. Bd. CXX, Abt. 1.

Dasselbe in: Centralblatt für Bacteriologie 1912. II. Abt. Bd. 31.

31. H. Wager, The Perception of Light in Plants. Annals of Botany. 1909. Vol. XXIII.

32. J. Wiesner, Untersuchung über die Beziehung des Lichtes zum Chlorophyll. Sitzgsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien, math.-nat. Kl. 1873. Bd. LXIX. Abt. 1.

33. J. Wiesner, Entstehung des Chlorophylls in der Pflanze. Wien 1877.

34. R. Willstätter und A. Stoll, Untersuchungen über Chlorophyll. Berlin 1913.

Anhang.

Tabellen.

Einige Protokolle über Galvanometerausschläge.

Filter	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Farbe	farblos	rot	rot-gelb	orange-gelb	gelb	gelb-grün	grün	blau-grün	blau	dunkel-blau	violett
Entfernung	1,30 m	1,30 m	1,30 m	1,30 m	3/4 · 1,30 m	1,30 m	3/4 · 1,30 m	3/4 · 1,30 m	3/4 · 1,30 m	1,30 m	3/4 · 1,30 m
Ausschläge	11,80	9,10	8,75	1,44	0,47	0,35	0,57	4,6	0,98	0,43	0,66
	11,76	9,07	8,72	1,41	0,44	0,37	0,59	4,3	0,93	0,40	0,68
	11,79	9,03	8,76	1,43	0,46	0,36	0,57	4,5	0,95	0,41	0,65
	11,73	8,98	8,69	1,39	0,45	0,34	0,54	4,7	0,92	0,39	0,63
	11,78	9,13	8,70	1,37	0,42	0,35	0,56	4,4	0,88	0,42	0,66
	11,80	9,03	8,64	1,42	0,43	0,32	0,52	4,3	0,96	0,38	0,62
	11,79	9,02	8,62	1,40	0,44	0,30	0,55	4,1	0,95	0,40	0,64
	11,69	9,04	8,65	1,41	0,46	0,34	0,53	4,5	0,93	0,39	0,60
	11,76	9,05	8,68	1,38	0,43	0,33	0,54	4,4	0,94	0,41	0,64
	11,74	9,05	8,67	1,35	0,45	0,34	0,53	4,3	0,91	0,37	0,62
Mittel	11,76	9,05	8,69	1,40	0,45	0,34	0,55	4,4	0,94	0,40	0,64
Ausschlag auf 1,30 m Entfernung umgerechnet	11,76	9,05	8,69	1,40	0,25	0,34	0,24	2,48	0,53	0,40	0,36

Filter	1		2		3		4	6	8		10
Farbe	farblos		rot		rot-gelb		orange-gelb	gelb-grün	blau-grün		dunkel-blau
Entfernung	0,65 m	2,60 m	0,65 m	2,60 m	0,65 m	2,60 m	0,65 m	0,65 m	1,30 m	2,60 m	0,65 m
Ausschläge	47,22	2,96	36,22	2,26	34,73	2,21	5,72	1,41	2,52	0,62	1,71
	47,07	2,90	36,20	2,30	34,68	2,18	5,64	1,36	2,48	0,60	1,66
	47,17	2,95	36,31	2,29	34,70	2,20	5,58	1,38	2,45	0,64	1,62
	46,96	2,89	36,18	2,25	34,66	2,14	5,74	1,45	2,47	0,59	1,56
	46,99	2,93	36,25	2,24	34,69	2,18	5,52	1,36	2,50	0,63	1,63
Mittel	47,08	2,93	36,23	2,27	34,69	2,18	5,64	1,39	2,49	0,62	1,64
auf 1,30 m umgerechnet	11,77	11,70	9,06	9,08	8,67	8,73	1,41	0,35	2,49	2,50	0,41

Einige Versuchsprotokolle.

Filter 1. Farblos. Entfernung 1,30 m.

Reihe I.

Belichtung	Ergebnis der spektroskopischen Untersuchung
30 Min.	+ + +[1])
20 „	+ +
10 „	+ +
5 „	+

Reihe II.

Belichtung	Ergebnis
5 Min.	+
4 „	+
3 „	—
2 „	—

Reihe III.

Belichtung	Ergebnis
4½ Min.	+
4 „	+
3½ „	—

Entfernung 2,60 m.

Reihe I.

Belichtung	Ergebnis
25 Min.	+ +
20 „	+
15 „	—
10 „	—

Reihe II.

Belichtung	Ergebnis
19 Min.	+
18 „	+
17 „	+
16 „	+

Filter 2. Rot. Entfernung 1,30 m.

Reihe I.

Belichtung	Ergebnis
5 Std.	+ +
4 „	+
3 „	—
2 „	—
1 „	—

Reihe II.

Belichtung	Ergebnis
4 Std.	+
3 Std. 45 Min.	+
3 „ 30 „	—
3 „ 15 „	—
3 Std.	—

Reihe III.

Belichtung	Ergebnis
3 Std. 45 Min	+
3 „ 40 „	?
3 „ 35 „	—

Entfernung 0,65 m.

Reihe I.

Belichtung	Ergebnis
1 Std.	+
¾ „	—
½ „	—

Reihe II.

Belichtung	Ergebnis
60 Min.	+
55 „	+
50 „	—

Reihe III.

Belichtung	Ergebnis
55 Min.	+
53 „	—
51 „	—

[1]) Das + Zeichen bedeutet, daß die Chlorophyllbildung schon begonnen hatte, mehrere + Zeichen, daß sie schon sehr deutlich wahrzunehmen war, während das — Zeichen besagt, daß noch kein Chlorophyll vorhanden.

Filter 3. Rot-gelb.

Entfernung 1,30 m.

Reihe I.

Belichtung	Ergebnis
3/4 Std.	+ + +
1/2 „	+ +
1/4 „	+ +
10 Min.	+
5 „	—

Reihe II.

Belichtung	Ergebnis
9 Min.	+
8 „	+
7 „	+
6 „	+
5 „	—

Reihe III.

Belichtung	Ergebnis
6 Min.	+
5 1/2 „	+
5 „	—

Entfernung 2,60

Reihe I.

Belichtung	Ergebnis
35 Min.	+ +
30 „	+ +
25 „	+
20 „	—

Reihe II.

Belichtung	Ergebnis
24 Min.	+
23 „	+
22 „	+
21 „	—

Filter 4. Orange-gelb. Entfernung 1,30 m.

Reihe I.

Belichtung	Ergebnis
1 1/2 Std.	+
1 „	—
1/2 „	—

Reihe II.

Belichtung	Ergebnis
1 Std. 25 Min.	+
1 „ 15 „	+
1 „ 5 „	+

Reihe III.

Belichtung	Ergebnis
1 Std. 4 Min.	+
1 „ 2 „	?
1 „	—

Filter 5. Gelb. Entfernung 0,65 m.

Reihe I.

Belichtung	Ergebnis
8 Std.	+ +
6 „	+
4 „	—
2 „	—

Reihe II.

Belichtung	Ergebnis
5 1/2 Std.	—
5 „	—
4 1/2 „	—

Reihe III.

Belichtung	Ergebnis
5 Std. 50 Min.	+
5 „ 40 „	+ (?)
5 „ 30 „	—

Reihe IV.

Belichtung	Ergebnis
5 Std. 45 Min.	+
5 „ 42 „	+
5 „ 40 „	?
5 „ 38 „	—
5 „ 35 „	—

Filter 6. Gelb-grün.

Entfernung 1,30 m.

Reihe I.		Reihe II.		Reihe III.		Reihe IV.		Entfernung 0,65 m.	
Belichtung	Ergebnis	Belichtung	Ergebnis	Belichtung	Ergebnis	Belichtung	Ergebnis	Belichtung	Ergebnis
3 Std	+	$2^3/_4$ Std.	+	2Std. 25Min.	—	2Std 29Min.	+	40 Min.	+
2 „	—	$2^1/_2$ „	+	2 „ 20 „	—	2 „ 28 „	?	35 „	—
1 „	—	$2^1/_4$ „	—	2 „ 18 „	—	2 „ 27 „	—		
						2 „ 26 „	—		

Filter 8. Blau-grün. Entfernung 0,65 m.

Reihe I.		Reihe II.		Reihe III.		Reihe IV.	
Belichtung	Ergebnis	Belichtung	Ergebnis	Belichtung	Ergebnis	Belichtung	Ergebnis
6 Std.	—	12 Std.	+ +	$9^1/_2$ Std	+	8 Std. 25 Min.	+
4 „	—	10 „	+	9 „	+	8 „ 20 „	+
2 „	—	8 „	—	$8^1/_2$ „	+	8 „ 15 „	?
						8 „ 10 „	—
						8 „ 5 „	—

Filter 9. Blau. Entfernung 0,65 m.

Reihe I.		Reihe II.		Reihe III.		Reihe IV.	
Belichtung	Ergebnis	Belichtung	Ergebnis	Belichtung	Ergebnis	Belichtung	Ergebnis
6 Std.	—	12 Std.	—	$15^1/_2$ Std.	+	$14^3/_4$ Std.	+
8 „	—	14 „	—	15 „	+	$14^1/_2$ „	?
10 „	—	16 „	+	$14^1/_2$ „	?	$14^1/_4$ „	—

Filter 10. Dunkelblau. Entfernung 1,30 m.

Reihe I.		Reihe II.		Reihe III.		Reihe IV.	
Belichtung	Ergebnis	Belichtung	Ergebnis	Belichtung	Ergebnis	Belichtung	Ergebnis
6 Std.	+	$3^1/_2$ Std.	+	2 Std. 50 Min.	+	2 Std. 34 Min.	+
4 „	+	3 „	+	2 „ 40 „	+	2 „ 33 „	+
2 „	—	$2^1/_2$ „	—	2 „ 35 „	+	2 „ 32 „	?
						2 „ 31 „	—

Filter 11. Violett. Entfernung 0,65 m.

Reihe I.		Reihe II.		Reihe III.		Reihe IV.	
Belichtung	Ergebnis	Belichtung	Ergebnis	Belichtung	Ergebnis	Belichtung	Ergebnis
8 Std.	+	5½ Std.	+	5 Std. 25 Min.	+	5 Std. 10 Min.	+
6 „	+	5 „	—	5 „ 15 „	+	5 „ 5 „	?
4 „	—	4½ „	—	5 „ 5 „	?	5 „	—

Erläuterungen zu den Tafeln.

Tafel III

stellt die von den einzelnen Filtern durchgelassenen Strahlenbezirke dar, wie sie bei spektroskopischer Untersuchung beobachtet wurden.

Tafel IV.

Figur 1 zeigt die Kurve der durch meine Versuche ermittelten Wirksamkeitswerte. Das Auslaufen der Kurve unter die Abszissenachse bei ca $\lambda = 530\ \mu\mu$ soll andeuten, daß für Filter 7 bei den angewandten Belichtungszeiten noch keine Wirksamkeit gefunden wurde.

Figur 2 zeigt das Chlorophyllspektrum nach Willstätter und Stoll (cf. S. 23). Das Bild, d. h. die übereinander abgebildeten Spektren sind entstanden dadurch, daß die Forscher den Chlorophyllauszug bei verschiedener Schichtdicke spektroskopisch untersuchten; das oberste Spektralbild ist bei der geringsten Schichtdicke aufgenommen, nach unten zu ist bei den Spektren die Schichtdicke erhöht.

Zur Kenntnis der Gattung Cylindrospermum.

Von **Rudolf Glade.**

(Mit Tafel V u. VI.)

I. Einleitung.

Beijerinck beschreibt in seiner Arbeit über oligonitrophile Mikroben (Literaturverzeichnis 2 u. 12) folgenden Versuch: Ziemlich große Standgläser wurden mit einer Lösung, die aus Leitungswasser und 0,02% sekundärem Kaliumphosphat bestand, ungefähr bis zur Hälfte gefüllt. In diese Gefäße wurde je eine Messerspitze voll Erde getan und die Kulturen dann an einem Nordfenster aufgestellt. Nach einiger Zeit, ungefähr sechs bis acht Wochen, bildete sich in den so behandelten Gläsern eine üppige Vegetation von sporenbildenden Cyanophyceen, wie Nostoc, Anabaena, Cylindrospermum.

Dieser Versuch wurde am 19. Februar 1912 im Botanischen Institut Halle wiederholt. Die dazu benutzte Erde stammte aus dem Garten des Institutes. Nach ungefähr sechs Wochen war in den Kulturgefäßen ein üppiger, blaugrün bis schwarz gefärbter Rasen von Cyanophyceen zu bemerken. Die mikroskopische Untersuchung zeigte, daß es sich hauptsächlich um eine Nostocart handelte. Daneben fanden sich jedoch auch, eng verfilzt mit den Nostocfäden, Fäden und Sporen einer Cylindrospermumart. Da in der Literatur Eingehenderes über die Physiologie dieser Gattung nicht zu finden war, weder über die Keimung der sonderbar geformten Dauerzelle, noch über etwaige Kulturbedingungen, anderseits Beijerinck annimmt, daß diese ganze Gruppe von Cyanophyceen imstande sei, den Stickstoff der Luft zu assimilieren, so beschloß ich, diese Gattung eingehender zu untersuchen.

II. Methodik.

In Lemmermanns „Kryptogamenflora“ (Verz. 7) S. 193 werden neun Arten der Gattung Cylindrospermum beschrieben. Da eine eingehendere Arbeit mir nicht bekannt war, so benutzte ich dieses Buch zum Bestimmen der von mir kultivierten Arten. Es handelte sich zuerst darum, möglichst alle in Deutschland vorkommenden Spezies zu gewinnen und dann artreine, wenn möglich sogar absolut reine

Kulturen zu züchten. Da der Beijerincksche sogenannte Anhäufungsversuch schon eine Art ergeben hatte, so beschloß ich, diese Methode weiter zu benutzen, zumal durch einfaches Suchen in der Natur nur in einem Falle ein Erfolg zu verzeichnen war. Auf einem Gartengrundstück in Naumburg, das früher eine sumpfige Wiese gewesen war, fand mein Kollege H. Maertens an schattigen Stellen den Boden mit einem dichten schwarz-grünen Rasen von Cyanophyceen bedeckt. Es ergab sich, daß dieser Rasen fast ausschließlich aus Cylindrospermum minutissimum bestand. Im weiteren Verlauf der Untersuchungen entdeckte ich auch im botanischen Garten zu Halle noch eine Stelle, wo man größere, makroskopisch sichtbare Mengen von Cylindrospermum fand, doch kam diese Stelle für die Gewinnung der Arten nicht in Betracht, da ich diese Spezies, Cylindrospermum licheniforme, schon durch den ersten Anhäufungsversuch nach Beijerinck erhalten hatte. Es sei gleich hier bemerkt, daß ich später noch eine zweite Form von Cylindrospermum licheniforme erhielt. Auf die Unterscheidungsmerkmale, von denen sich eine ganze Reihe sowohl morphologischer als auch physiologischer Art fand, komme ich in den folgenden Kapiteln zu sprechen. Die zuerst gefundene Form möge Cylindrospermum licheniforme forma typica, die spätere forma Lemmermanni heißen.

Es handelte sich nun darum, weitere Arten zu beschaffen. Ich wiederholte daher den Anhäufungsversuch mit Erde von verschiedenen Orten und erhielt, wenn auch nicht in allen Fällen, doch vielfach Kulturen von Cylindrospermum. Zu diesem Zwecke sammelte ich eine große Anzahl von Erdproben unter möglichster Berücksichtigung solcher Stellen, die für Cyanophyceen günstig zu sein schienen. Bei einiger Übung ist es nicht schwer, nach der Beschaffenheit der Erde und nach ihrer Farbe zu sagen, ob es wahrscheinlich ist, daß sie Sporen von Cyanophyceen enthält, auch wenn makroskopisch kein Algenüberzug zu sehen war. Teilweise sammelte ich die Erdproben selbst bei Exkursionen, ein großer Teil wurde mir aber auch von verschiedenen Orten zugeschickt. Herr Prof. Kniep besaß die Liebenswürdigkeit, mir aus Straßburg eine Reihe von Erdproben zu schicken, Herr Dr. Pringsheim brachte mir einige Proben aus Nordafrika mit. Durch die Freundlichkeit des Herrn Geheimrat Dr. Paasche erhielt ich eine weitere Serie von seinem Gute in der Neumark sowie aus Tsingtau (Ostasien). Endlich brachte mir mein Kollege Maertens eine Reihe von Erdproben aus Naumburg mit. Ich möchte allen genannten Herren meinen Dank aussprechen für ihre liebenswürdigen Bemühungen.

Als Kulturgefäße benutzte ich Einmachegläser von 15 bis 20 cm Höhe, die bis zur Hälfte mit der schon angegebenen Nährlösung, Leitungswasser + 0,02% Kaliumphosphat, gefüllt waren. Sterilisiert

wurden die Lösungen nicht; um das Eindringen von Staub etc. zu verhindern, wurde über jedes Gefäß ein Glasdeckel gelegt. Die folgenden Protokolle zeigen die sehr allgemeine Verbreitung, die den Sporen von Cyanophyceen im Boden zukommt. Cylindrospermum trat relativ selten auf.

1. Versuchsreihe.

Kultur 1. Schlamm aus einem eingetrockneten Teiche bei Cönnern.	Ergebnis: Cylindrospermum muscicola, fast rein, nur wenig Nostoc spec.
Kultur 2. Erde aus Cönnern, Grabenrand	Ergebnis: Nostoc spec.; geringe Mengen von C. muscicola.
Kultur 3. Teichschlamm aus Friedrichsbrunn i. Harz	Nostoc spec.; geringe Mengen von Cylindrospermum (wurde weiter kultiviert und zeigte sich identisch mit C muscicola).
Kultur 4. Erde aus Friedrichsbrunn, Bachufer	Nostoc spec.
Kultur 5. Erde aus Friedrichsbrunn, Wiese	Nur wenige Grünalgen.
Kultur 6. Friedrichsbrunn, steiniger Waldboden	Nichts gewachsen.

Zu der nächsten Versuchsreihe wurde Erde benutzt von der Stelle, wo Cylindrospermum minutissimum gefunden war. Der eigentliche Zweck dieses Versuches war, neues Material von dieser Art zu beschaffen, da die schon vorher gewonnenen Kulturen durch einen Zufall verloren gegangen waren. Es ergab sich, daß diese Stelle im hohen Maße günstig für das Gedeihen von Cylindrospermum sein mußte. Es wurden nämlich außer C. minutissimum noch drei weitere Arten gefunden. Die Erde für diesen Versuch wurde mitten im Winter von der schon vorher bekannten Stelle entnommen. Es war von den im Sommer gefundenen Algenmassen nichts zu bemerken, die Erde war hart gefroren und konnte nur mit Mühe losgebrochen werden. Es wurden dann, mitten im Winter, drei Kulturen mit dieser Erde angesetzt; nachdem sie über zwei Monate sich selbst überlassen waren, ergaben sie folgendes Resultat.

2. Versuchsreihe.

Kultur 1. Gartenerde aus Naumburg	Nostoc spec.; geringe Mengen von C. minutissimum; üppige Rasen von C. catenatum.
Kultur 2. Naumburg, Gartenerde	Nostoc spec.; am Boden des Gefäßes dicke braunschwarze Rasen von C. licheniforme forma Lemmermanni.
Kultur 3. Naumburg, Gartenerde	Nostoc spec.; geringe Mengen von C. majus.

Es gelang also, aus der Erde von dieser Stelle vier verschiedene Cylindrospermumarten zu gewinnen, obwohl in dem ursprünglich gefundenen Rasen nur C. minutissimum zu entdecken war. Die Sporen der anderen Arten müssen natürlich schon darin gewesen sein, jedenfalls aber in so geringer Menge, daß auch die mikroskopische Untersuchung sie nicht entdecken konnte. Allein der Beijerinckschen Methode ist es also zu verdanken, daß auch die zuerst übersehenen Spezies gefunden wurden.

Diese Erfolge berechtigten zu der Hoffnung, daß weitere Versuche ähnliche Resultate erzielen würden. Leider wurde diese Vermutung nicht in dem Maße bestätigt, wie ich es erwartet hatte. Immerhin geben die folgenden Protokolle, wenn auch neue Cylindrospermumarten durch diese Versuche nicht gewonnen werden konnten, ein anschauliches Bild von dem Reichtum der Bodenflora an Cyanophyceen. Es wurden die verschiedensten Vertreter sporenbildender Spaltalgen gefunden; sie wurden nicht näher bestimmt, da diese Arbeit hauptsächlich auf die Gattung Cylindrospermum beschränkt wurde. Ich bin jedoch sicher, daß eine im größeren Stile vorgenommene Wiederholung dieser Anhäufungsversuche viel floristisch Neues und Interessantes ergeben würde. Schon bei meiner doch noch geringen Anzahl traf ich auf Formen, die ich mit dem besten Willen nicht bestimmen konnte, die also zweifellos noch garnicht bekannt sind. Es bleibt noch hinzuzufügen, daß die Erdproben für die folgenden Versuchsreihen vollständig ausgetrocknet waren, als sie zur Verwendung kamen. Sie ergaben trotzdem gutes Wachstum von Cyanophyceen.

3. Versuchsreihe. Erdproben aus dem Harz.

Kultur 1. Gipsfelsen bei Ellrich	Kleine, knäuelige Polster einer Nostoc spec. in geringen Mengen gewachsen.
Kultur 2. Höhle im Gips bei Ellrich, ziemlich feucht und dunkel	Nostocähnliche Cyanophycee, nicht bestimmbar, mit eigenartiger Entwicklung.
Kultur 3. Schattiger Wald (Buchen)	Nur wenige einzellige Cyanophyceen.
Kultur 4. Ackerkrume bei Ellrich	Cylindrosp. spec. Die Art war nicht zu bestimmen, da nach über 2 Monaten noch keine Sporen gebildet waren, die Fäden wurden gelb.
Kultur 5. Feuchter Straßengraben bei Walkenried	Cylindrospermum muscicola, Nostoc spec.
Kultur 6. Bachufer bei Braunlage	Nur einige Grünalgen gewachsen.
Kultur 7. Rotes Bruch, Hochmoor bei Braunlage, trockener Torf	Nichts gewachsen.

Kultur 8. Rotes Bruch, Schlamm aus einer Pfütze	Nichts gewachsen.
Kultur 9. Herrmannshöhle, aus dem Bereich des elektr. Lichts	Nostoc spec.
Kultur 10. Rübeland, schmutziger Rinnstein	Wenige Oscillarien gewachsen.
Kultur 11. Wie 9.	Nostoc spec. gewachsen.
Kultur 12. Wie 9.	Nostoc spec. mit sehr großen Sporen gewachsen.
Kultur 13. Straßenrand bei Treseburg	Wenige Grünalgen gewachsen.
Kultur 14. Altes Wagengeleise, feucht, bei Treseburg	Cylindrospermum licheniforme, Nostoc spec.

4. Versuchsreihe. Erdproben aus Naumburg.

Kultur 1. Feuchte Erde von einem alten Saalearm	Nostoc spec., grüne Fadenalgen.
Kultur 2. Erde unter Kastanien, Bürgergartenpromenade	Nostoc spec., vereinzelt Cylindrosp. spec. nicht zu bestimmen, da Sporen fehlten.
Kultur 3. Bürgergarten, schattige Stelle im Gebüsch	Nostoc spec., verfilzt mit Cylindrospermum licheniforme.
Kultur 4. Feuchte Grabensohle	Cylindrospermum spec. nicht zu bestimmen, da Sporen fehlten.
Kultur 5. Salzhaltiger Abfluß aus der Saline, Kösen	Nichts gewachsen.
Kultur 6. Feuchte Stelle in einer Kiesgrube, sonnig	Sehr kleine Nostoc spec.
Kultur 7. Knabenberg, in einer feuchten Senkung unter Bäumen	Verschiedene Nostocarten.
Kultur 8. Saaleufer bei Kösen	Sehr kleine Nostoc spec.

5. Versuchsreihe. Erdproben aus der Neumark.

Kultur 1. Fundstelle nicht bezeichnet	Cylindrospermum spec. mit fast runden Sporen, ging leider bei Kulturversuchen ein.
Kultur 2. Fundstelle nicht bezeichnet	Nostoc spec., einige Oscillarien.
Kultur 3. Schattige Stelle im Gebüsch	Cylindrospermum licheniforme.
Kultur 4. Bachufer, zwischen Schilf	Anabaena cylindrica, Nostoc spec.
Kultur 5. Schattiger Kiefernwald	Nostoc spec. mit sehr dünnen Fäden.
Kultur 6. Sandboden	Nostoc spec.

Die Erdproben aus Straßburg waren leider nicht mit genaueren Fundortsangaben versehen. Da eine weitere Cylindrospermumart aus dieser Versuchsreihe nicht gewonnen wurde, kann ich auf die Aufzeichnung des Protokolls verzichten.

6. Versuchsreihe. Ausländische Erdproben.

Kultur 1. Aus Tsingtau, Erde von der Wurzel einer von dort gesandten Zierpflanze	Ganz kleine Nostoc spec. gewachsen.
Kultur 2. Wie 1	Nichts gewachsen.
Kultur 3. Oase Biskra	Nostoc spec. mit sehr kleinen Sporen.
Kultur 4. Warme Quelle, Tunesien	Oscillarien in geringer Menge gewachsen.

Die Resultate dieser Versuche zeigen, daß die Gattung Cylindrospermum doch nicht so verbreitet ist, wie man nach der Probe mit der Gartenerde aus Naumburg hätte annehmen können. Diese Stelle muß ganz besondere Eigenschaften haben, die das Wachstum von Cylindrospermum begünstigen, während Nostocarten dort fast gar nicht vorkommen. Aus den später folgenden physiologischen Versuchen wird man auch den Grund für dieses Verhalten finden.

Die Nostocarten ähnelten sich zum Teil sehr, es ist auch wahrscheinlich, daß darunter manche Form sich befand, die wohl besser in die Gattung Anabaena einzureihen wäre. Es ist sehr schwierig, mit Sicherheit zu entscheiden, ob man eine vorliegende Alge als Nostoc oder als Anabaena ansprechen soll, wenn man die Art des Wachstums an natürlichen Standorten nicht zum Vergleich heranziehen kann. Eine dieser Arten wurde unter der Bezeichnung Nostoc spec. in Kultur genommen, um ein Vergleichsobjekt bei den physiologischen Versuchen zu haben.

Die nach den angeführten Methoden gewonnenen Arten mußten nun isoliert werden, dann war zu versuchen, absolute Reinkulturen herzustellen. Sämtliche Arten mit Ausnahme von C. minutissimum wurden nach der Beyerinckschen Anhäufungsmethode gewonnen. Die einfachste und geeignetste Nährlösung, in der sämtliche Arten gut wuchsen, und die sie auch alle passierten, (auch C. minutissimum wurde darin kultiviert), war also Leitungswasser + 0,02% K_2HPO_4 + eine Spur Erde. Späteren Kulturen, die dieselbe Zusammensetzung haben sollten, wie die Anhäufungen, aber sterilisiert werden sollten, wurde zuerst an Stelle von Erde eine Spur Erdabkochung zugesetzt. Man konnte diese Erdabkochung aber ebensogut weglassen, ohne das Wachstum im geringsten zu beeinträchtigen.

Beim Übergang zu Kulturen mit künstlich zusammengesetzten Nährlösungen bestätigten sich die Erfahrungen von E. G. Pringsheim

(Verz. 8, 9) auch für die von mir untersuchten Algen. Ich benutzte daher zur Herstellung von Nährlösungen nur Wasser, das in Jenenser Glasgefäßen zum zweiten Male destilliert war. Gleichfalls kamen nur die reinsten Salze von Merck und Kahlbaum bei der Herstellung der Lösungen zur Verwendung. Jeder Erlemeyerkolben, der bei diesen Kulturversuchen benutzt wurde, war zuvor mehrere Male mit Chromschwefelsäure behandelt worden, um etwaige Spuren von Fremdstoffen, die dem Glase anhaften konnten, zu entfernen.

Sehr gut und üppig wuchsen die Algen immer auf Kieselgallerte sowie auf Gipsblöcken oder Tonplatten. Die Herstellung dieser Substrate ist bei Küster (Verz. 5) sowie in den Pringsheimschen Arbeiten eingehend beschrieben. Die Algen breiteten sich auf diesen Nährböden gut aus und bildeten nach der Sporenreife einen dicken, gleichmäßigen Überzug. Wenn man dann solche Kulturen eintrocknen ließ, so konnte man von Gipsblöcken die Sporen leicht abschaben, Tonscherben konnten einfach mit den anhaftenden Algen zerkleinert werden, sodaß man jederzeit gutes Material z. B. für physiologische Versuche besaß. Derartige Manipulationen wurden immer im Impfkasten vorgenommen; nur durch diese Vorsichtsmaßregel konnte eine Pilzinfektion der Kulturen verhindert werden. Pilze gelangten auch noch auf anderem Wege leicht auf die Algenrasen. Hauptsächlich waren Petrischalen mit Kieselgallerte immer dieser Gefahr ausgesetzt. So war darauf zu achten, daß die Deckel der Schalen gut paßten, da durch ein Verschieben derselben leicht Pilzsporen auf die Kulturen gelangten. Noch leichter geschah dies, wenn man die Platten im geschlossenen Sterilisator nicht genügend auskühlen ließ. Die Schalen sogen dann die mit Pilzsporen überladene Luft des Laboratoriums ein. Die Pilze störten öfters die Versuche in hohem Maße, da sie auch beim Impfen leicht in die Kulturen gerieten und dort von abgestorbenen Algenfäden lebten. Um sie zu entfernen, mußte immer eine große Anzahl von Petrischalen gebrauchsfertig sein. Eine Zeitlang waren sämtliche Kulturen von C. muscicola mit Pilzen verunreinigt. Nur durch häufiges Überimpfen auf Kieselgallerte gelang es, diese Art wieder zu säubern.

Bei den Versuchen zur Keimung der Dauerzellen wurden auch Hängetropfenkulturen in feuchten Kammern benutzt. Das Sterilisieren dieser Kulturen bereitete ziemliche Schwierigkeiten. Anfangs wurde die fertige Deckglaskultur ohne Nährlösung, also Objektträger, mit Wasserglas aufgekitteter Glasring und Deckglas, im Trockenschrank auf 110° erhitzt und nachträglich ein Tropfen steriler Nährlösung unter das Deckglas gebracht. Beim Erhitzen im Trockenschrank sprang jedoch meistens die Kittung wieder ab. Außerdem hatte die Methode den Nachteil, daß beim nicht zu vermeidenden Herumtragen

der sterilen Kulturen die Deckgläser häufig herunterfielen. Es wurden daher später nur noch letztere geglüht (auf einer Kupferplatte) und dann auf den mit Vaseline versehenen Ring gesetzt. Die sterile Nährlösung wurde dann ebenfalls nachträglich hinzugefügt.

Es war nun zunächst jede Art von anderen Algen und sonstigen Verunreinigungen mit Ausnahme der Bakterien zu trennen. Die erste Art, bei der mir dies gelang, war Cylindrospermum licheniforme forma typica. Da die Alge ziemlich verfilzt mit Nostoc. spec. auftrat, so bereitete ihre Trennung die meiste Mühe. Die ersten Versuche, die beiden Arten unter dem Mikroskop zu isolieren, schlugen sämtlich fehl. Ich benutzte für diese Versuche nur Petrischalen mit Kieselgallerte, da das geimpfte Material auf diese Weise immer mikroskopisch kontrolliert werden konnte. Dabei ergab es sich, daß Nostoc schneller wuchs als Cylindrospermum, so daß es nicht möglich war, trotz wiederholten Abimpfens von der günstigsten Stelle, die beiden Arten zu trennen.

Verschiedene andere Wege wurden nunmehr eingeschlagen, um zum Ziele zu gelangen. Da die Sporen von Nostoc bedeutend dünnwandiger und kleiner sind als die von Cylindrospermum, versuchte ich durch intensives Austrocknen etwas zu erreichen. Sporenmaterial, das unter dem Mikroskop ausgesucht war, und zum größten Teile Cylindrospermum enthielt, daneben natürlich Nostoc in geringen Mengen, wurde auf Fließpapier angetrocknet und vierzehn Tage in den Exsikkator gestellt. Ich glaubte dadurch die kleineren Dauerzellen von Nostoc, wenn auch nicht abgetötet, so doch wenigstens in der Entwicklung gehemmt zu haben. Beim Aussäen ergab sich jedoch, daß wiederum Nostoc sofort alles überwucherte. Ich versuchte nunmehr die Sporen nach der Kochschen Trennungsmethode mit Agar-Agar zu isolieren. Als Nährlösung für den Agar wurde Leitungswasser + 0,02% K_2HPO_4 + Spur Erdabkochung gewählt, um die Ernährungsbedingungen möglichst gleich zu lassen. Es gelang auch wirklich, eingetrocknetes Sporenmaterial im Mörser soweit zu zerreiben, daß die Dauerzellen nach dem Plattenguß einzeln lagen. Die meisten waren freilich so mit Bakterien behaftet, daß nach kurzer Zeit die ganze Stelle trübe und undurchsichtig wurde. Aber auch die wenigen Sporen, die nicht mit Bakterien infiziert waren, keimten trotz langer Beobachtungsdauer nicht aus.

Schließlich führte ein anderer Weg zum Ziele. Bei Durchsicht der ersten Schalenkulturen, die einfach roh geimpft waren und nun über die ganze Kieselsäureschicht mit Nostoc bedeckt waren, machte ich folgende Beobachtung. Die Fäden von Nostoc bildeten auf der Kieselgallerte ganz charakteristische, ziemlich große Schleifen. In dem leeren Raum zwischen den einzelnen Windungen befanden sich

an vielen Stellen reichliche Mengen von Cylindrospermum. Unter dem Präpariermikroskop konnte eine solche Stelle gut herausgenommen werden, denn die ganze, von Nostoc freie Fläche war damit bedeckt. Es war also die verschiedene Art des Wachstums, die die Trennung ermöglichte.

Die anderen Spezies bereiteten bei weitem nicht solche Schwierigkeiten. C. minutissimum kam an dem natürlichen Fundort so rein vor, daß man nur ein beliebiges Stück des Rasens zu impfen brauchte, um sofort eine saubere Kultur zu haben. Diatomeen traten zwar noch vereinzelt auf, sie krochen jedoch ziemlich schnell zentrifugal über das Substrat hin, sodaß sie durch nochmaliges Überimpfen leicht beseitigt werden konnten. Ich ließ zu diesem Zwecke das geimpfte Stück Rasen sich vier bis fünf Tage ausbreiten. Die Diatomeen krochen dann zum größten Teile aus dem Bereich der Algen heraus. Ich impfte dann nicht vom Rande der Kultur ab, sondern aus der Mitte, weil dort die wenigsten Diatomeen waren. Wenn man diese Manipulation einige Male wiederholte, so kam man schließlich zu sauberen Kulturen.

C. muscicola war in der einen Anhäufungskultur ebenfalls sehr rein vorhanden, beim Impfen auf Kieselgallerte zeigten sich zwar gleichfalls viele Diatomeen, die aber auf die beschriebene Art und Weise leicht beseitigt werden konnten. C. catenatum ließ sich auch leicht von anderen Algen trennen. In der ersten Impfung waren freilich überwiegend Nostocfäden. Das Verfahren konnte jedoch bedeutend abgekürzt werden. Die betreffende Petrischale hatte eine Kieselgallerteschicht, die einige Risse durch das Sterilisieren bekommen hatte. In diesem Riß wuchsen die Cylindrospermumfäden sehr schnell entlang. Am Ende der Spalte traten sie wieder auf die Oberfläche des Substrats und bildeten dort einen kleinen, aber sehr sauberen Rasen. So gelang es, schon in der zweiten Impfung, Nostoc und Diatomeen vollständig zu überwinden. Zuletzt wurden artrein erhalten C. licheniforme forma Lemmermanni und C. majus. Erstere bereitete keine weiteren Schwierigkeiten, nur Diatomeen machten ein öfteres Impfen nötig. C. majus hingegen ähnelte in der Schwierigkeit der Trennung der zuerst isolierten Art. Dafür ist hauptsächlich das außerordentlich langsame Wachstum dieser Art verantwortlich zu machen.

Später, nachdem die Algen artrein gewonnen waren, wurden auch Versuche angestellt, absolute Reinkulturen zu gewinnen. Am geeignetsten erschien mir dazu die neue Methode von E. G. Pringsheim (Verz. 9). Es wurden also drei Arten, ich nahm als allein aussichtsreich die einigermaßen sich rasch ausbreitenden Arten, C. licheniforme forma typica, C. muscicola und C. minutissimum, auf Kieselgallerte möglichst oft übergeimpft. Ich suchte jedesmal unter dem Mikroskop

die am weitesten von dem Ausgangspunkt der Kultur entfernten Fäden heraus und übertrug sie dann auf eine neue Schale. Nach sehr häufigem Umimpfen auf Kieselgallerte brachte ich schließlich ein Stückchen Rasen versuchsweise auf eine Platte, die Agar und Heyden-Nährstoff enthielt. Es entwickelte sich natürlich eine Bakterienkolonie, aber auch die Algen wuchsen an. Sie breiteten sich jedoch so langsam aus, daß sie niemals aus dem Bereich der Bakterien herauskamen. Der Versuch wurde verschiedene Male wiederholt, aber nicht einmal trat der Fall ein, daß die Alge sich schneller ausbreitete als die Bakterien. Die für schnellwachsende Oscillarien brauchbare Methode mußte also schließlich aufgegeben werden.

Noch einmal, wie bei der Isolierung der Arten, wurde dann der Versuch angestellt, durch Plattenguß in drei Verdünnungen möglichst eine Spore zu isolieren. Um die anhaftenden Bakterien etwas zurückzudrängen, wurde die Temperatur gesteigert, in der der Agar gegossen wurde. Man durfte annehmen, daß die dicke Membran der Dauerzelle wenigstens kurze Zeit hindurch die höhere Temperatur vertragen könnte. Folgende Variationen beim Plattenguß kamen daher zur Verwendung:

1. Plattenguß bei 100° (eingetrocknetes Material)
2. „ „ 100° (nasses Material)
3. „ „ 70° „ „
4. „ „ 40° „ „

Zwei Versuchsreihen liefen parallel, einmal enthielt der Agar Heyden-Nährstoff, das andere Mal eine anorganische Nährlösung. Trockenes Material wurde nur bei 100° angewandt, da bei einer niedrigeren Temperatur ja überhaupt keine Aussicht vorhanden war, die Bakteriensporen zurückzudrängen. Der ganze Versuch scheiterte jedoch wieder an der Unmöglichkeit, die Sporen im Agar zum Keimen zu bringen. Bakterien traten zwar bei den Plattengüssen bei 100° nicht so häufig auf, jedoch keimten die Sporen nicht. Abgetötet waren sie durch den kurzen Aufenthalt in Agar von 100° nicht, wie der folgende, letzte Versuch zur Erzielung absoluter Reinkulturen zeigt.

Man konnte annehmen, daß die Sporen kurze Zeit auch in Flüssigkeit die Temperatur des kochenden Wassers vertragen. Es war zu hoffen, daß, wenn eine Kultur mit frisch geimpften Sporen ganz kurze Zeit sterilisiert und dann einige Tage stehen gelassen blieb, die Bakteriensporen auskeimten und beim darauf folgenden abermaligen Sterilisieren getötet würden, während die dickwandigen Algensporen am Leben blieben. Ich brachte also in ein Kölbchen mit 0,1% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$ + 0,02% K_2HPO_4 + Spur Fe etwas Sporenmaterial und sterilisierte dann zwei Minuten im Dampftopf. Damit die Dauerzellen auch gleich die Temperatur von 100°

annehmen sollten, wurde zuerst die Nährlösung allein erhitzt, dann die Sporen hinzugetan und nochmals zwei Minuten sterilisiert. Dann ließ ich die Kulturen 24 Stunden stehen und erhitzte sie darauf nochmals zwei Minuten im vorgeheizten Dampftopf. Gleichzeitig wurde auch eine Kontrollkultur angesetzt, die nur einmal zwei Minuten sterilisiert war. Die zweimal erhitzten Kulturen wuchsen jedoch gar nicht an, da jedenfalls in den 24 Stunden so viel Feuchtigkeit aufgenommen wurde, daß die Sporen bei der zweiten Sterilisierung getötet wurden. Die Kulturen, die nur einmal auf 100 Grad gebracht waren, wuchsen gut an, die Kontrolle auf Heyden-Agar ergab jedoch nicht weniger Bakterien als vorher. Die Versuche, absolute Reinkulturen zu gewinnen, wurden hierauf aufgegeben. Nach den Ergebnissen mit anorganischen Nährlösungen, die weiter unten angegeben sind, ist auch kaum anzunehmen, daß mit organischen Stoffen eine bessere Ernährung erzielt worden wäre.

III. Morphologie.

a. Beschreibung der gefundenen Arten.

Nach Lemmermanns „Kryptogamenflora" gehört Cylindrospermum zu der Gruppe der Nostocaceen. Von einem Nostoc oder einer Anabaena ist diese Gattung leicht zu unterscheiden. Während die vegetativen Fäden der beiden erstgenannten Gattungen eine ziemlich große Länge erlangen, bleibt der Faden von Cylindrospermum immer recht kurz. Auch trifft man nie, wie bei Nostoc, Heterocysten oder Grenzzellen im Verlauf der Zellreihe an. Nur die Endzellen eines Fadens sind farblos geworden. Lemmermann nennt diese Gebilde ebenfalls Grenzzellen. Am weitesten weicht jedoch der Bau der Spore von Nostoc ab. Die Differenzierung zwischen vegetativer Zelle und Dauerzelle ist wohl bei Cylindrospermum am weitesten entwickelt. Die dicken, meist gefärbten Membranen, die diese Gebilde umhüllen, unterscheiden sie recht deutlich von den dünnwandigen, die vegetativen Zellen nur wenig übertreffenden Sporen der Nostocarten. Um bei der Bestimmung der einzelnen Arten ganz sicher zu gehen, wurde die Länge und Breite der Spore, sowie sonstige für die Definition der Art wichtige Größen, mindestens zehnmal an beliebig herausgegriffenen Individuen gemessen. Es sollen an dieser Stelle nur die zur Bestimmung gebräuchlichen morphologischen Befunde angegeben werden. Die Sporenkeimung sowie die physiologischen Eigentümlichkeiten werden dann in den nächsten Kapiteln weiteres Material zur Unterscheidung der Arten geben.

A. Cylindrospermum licheniforme (Bory) Kütz.
(Tafel V, 1 u. 2.)

Sowohl rein morphologische Befunde, die verschiedene Größe und Gestalt der Sporen, als auch die Ergebnisse der physiologischen Versuche, auf die weiter unten näher eingegangen wird, bewogen mich, von dieser Art zwei konstante Formen anzunehmen. Die eine fand ich zuerst von allen Arten bei dem Anhäufungsversuch mit Erde aus dem Botanischen Garten. Später gelang es mir auch, im Alpinum des Gartens an einer schattigen, etwas feuchten Stelle natürliche Rasen zu entdecken. Die Alge bildete einen schwärzlichen, vom Erdboden kaum zu unterscheidenden Überzug. Auch in Kulturen strömte sie einen charakteristischen Geruch aus, wie man es bei Oscillarien häufig findet. Die Spore ist bei dieser Art immer in der Einzahl an jedem Faden zu finden. Sie ist einzeln braunrot, doch nahm eine Kultur nach der Sporenreife einen mehr schwarzbraunen Farbenton an. Jeder Spore sitzt an einem Ende eine Grenzzelle auf, da ja die hinter der letzteren gelegene Zelle sich zu einer Spore umbildet. (Näheres im Kapitel III b.) Die vegetativen Zellen, im optischen Querschnitt quadratisch bis rechteckig und an den Querwänden etwas eingeschnürt, ähneln denen eines Nostoc mit Ausnahme der Stellung der Heterocyste. Auch ist die Färbung zarter und von hellerem Grün. Die bei den Messungen gefundenen Werte stimmen mit den Befunden Lemmermanns nicht genau überein, sie kommen ihnen jedoch außerordentlich nahe. Wichtig für den Unterschied von der zweiten Form ist die schwankende Länge der Dauerzellen, sowie ihre Breitenabmessungen, die sich an der unteren Grenze der Lemmermannschen Angaben halten.

Ich nannte die soeben beschriebene Form Cylindrospermum licheniforme forma typica. (Tafel V, 1.)

Die zweite Form gewann ich, wie aus den Protokollen über die Anhäufungsversuche zu sehen ist, aus Gartenerde aus Naumburg. Herr Dr. Lemmermann, der die Liebenswürdigkeit besaß, sämtliche von mir untersuchten Arten zu begutachten, nannte diese Form ebenfalls C. licheniforme, gab aber zu, daß die Abmessungen andere wären, als bei der zuerst gefundenen Alge. Bei Kulturversuchen fiel mir nun auf, daß sich die Nährlösung nach der Sporenreife regelmäßig intensiv rot-violett färbte, es mußte sich also ein Teil des Farbstoffes aus der Sporenhaut gelöst haben. Bei forma typica konnte ich diese Färbung niemals beobachten. Die Form der Spore war gedrungener und breiter, ihre Färbung bräunlich rot, aber viel dunkler als bei forma typica. Die Abmessungen der beiden Formen sollen, da sie nicht genau übereinstimmen, hier in Tabellenform nebeneinander-

gestellt werden. Nach Herrn Dr. Lemmermann, der zur Zeit wohl die Autorität für Cyanophyceenfloristik ist und mich so freundlich unterstützte, nenne ich die zweite Form Cylindrospermum licheniforme forma Lemmermanni (Tafel V, 2).

	Eigene Mess., forma typica	Eigene Mess., forma Lemmerm.	Messungen nach Lemmermann
Länge der Sporen .	24,3 μ bis 39,2 μ	20,4 μ bis 24,8 μ	20 μ bis 38 μ
Breite der Sporen .	10 μ bis 13,03 μ	11,9 μ bis 13,3 μ	11 μ bis 14 μ
Länge der Heterocysten	7,1 μ bis 10,03 μ	5,4 μ bis 7,2 μ	7 μ bis 12 μ
Breite der Heterocysten	4,9 μ bis 5,6 μ	3,9 μ bis 4,7 μ	5 μ bis 6 μ
Länge der vegetativen Zelle . . .	3,9 μ bis 6,5 μ	3,7 μ bis 5,1 μ	4 μ bis 5 μ
Breite der vegetativen Zelle . . .	3,9 μ bis 4,8 μ	3,4 μ bis 3,6 μ	2,5 μ bis 4,2 μ

Außer der verschiedenen Größe der Spore und der Heterocyste fiel mir bei forma Lemmermanni noch eine weitere Eigentümlichkeit auf. Es kam nämlich, wenn auch sehr selten, vor, daß die Sporen dieser Form zu zweien hintereinander angereiht waren, was bei form. typica nicht einziges Mal beobachtet werden konnte, obwohl danach gesucht wurde. Es sei zum Schluß noch hinzugefügt, daß der Geruch der forma Lemmermanni bei weitem nicht so intensiv wie bei der zuerst beschriebenen war. Auch bei den übrigen untersuchten Arten trat er nur ganz schwach auf. Die angegebenen morphologischen Unterschiede, vereint mit Verschiedenheiten bei der Keimung, sowie die Differenzen physiologischer Art werden die Trennung in zwei konstante Formen rechtfertigen.

B. Cylindrospermum muscicola Kütz. (Tafel V, 3.)

Eine von den beiden soeben beschriebenen Arten ganz und gar verschiedene war die, welche ich aus Anhäufungskulturen aus Könnern und dem Harz erhielt. Schon makroskopisch war ein großer Unterschied zu bemerken. Wie die Alge an einem natürlichen Standort aussieht, kann ich nicht entscheiden, da ich sie nur aus den Anhäufungen kenne. In den Kulturgläsern bildete diese Art dicke Klumpen von gelblicher Farbe. Die Sporen sind ziemlich klein und gedrungen, im reifen Zustand ist ihre Farbe lebhaft goldgelb bis goldbraun. Sie treten an jedem Faden nur in der Einzahl auf, da die Alge jedoch sehr üppig wächst und dicke Polster bildet, sind nach der Reife in einer Kultur große Mengen von Sporen zu finden. Die

Außenschicht der Dauerzelle ist wie bei den beiden vorhergehenden Arten vollständig glatt. Die Abmessungen sind folgende:

	Eigene Messungen	Messungen nach Lemmermann
Länge der Sporen	12,7 μ bis 20,4 μ	10 μ bis 20 μ
Breite der Sporen	8,5 μ bis 10,2 μ	9 μ bis 12 μ
Länge der Heterocyste	6,1 μ bis 10,3 μ	5 μ bis 7 μ
Breite der Heterocyste	3,6 μ bis 4,5 μ	4 μ
Länge der vegetativen Zellen .	4,7 μ bis 5,4 μ	4 μ bis 5 μ
Breite der vegetativen Zellen .	3,0 μ bis 3,4 μ	3 μ bis 4,7 μ

Die vegetativen Fäden sind länger als wie bei C. licheniforme, auch sind die Zellen an den Querwänden nicht so eingeschnürt. Ihre Farbe ist noch heller als bei den vorigen Arten. Weitere Artmerkmale werden sich gleichfalls aus den Resultaten der Sporenkeimung sowie aus den Wachstumserfolgen in verschiedenen Nährlösungen ergeben.

C. Cylindrospermum minutissimum Collins. (Tafel V, 4.)

Das Aussehen dieser Art an ihrem natürlichen Standort ist in den Protokollen eingehend beschrieben. Die Sporen, mit glatter, farbloser, nur manchmal etwas ins gelbgrüne schimmernder Außenschicht sind häufig zu zweien hintereinander angeordnet. Man sieht dies nicht gleich auf den ersten Blick, weil die Dauerzellen nach vollendeter Reife die Verbindung mit dem vegetativen Faden lösen. Sonst genügt auch schon der Druck des aufgelegten Deckglases, um die Sporen durcheinander zu werfen. In Kulturen zeigte sich diese Art außerordentlich empfindlich, vor allem gegen zu starke Belichtung. Die Abmessungen sind folgende:

	Eigene Messungen	Messungen nach Lemmermann
Länge der Spore.	17 μ bis 22 μ	12 μ bis 25 μ
Breite der Spore.	8,5 μ bis 10,2 μ	7 μ bis 9 μ
Länge der Heterocyste	4,1 μ bis 5,9 μ	6 μ bis 8 μ
Breite der Heterocyste.	3,4 μ bis 5,1 μ	4 μ
Länge der vegetativen Zelle. .	3,4 μ bis 5,2 μ	4 μ bis 5 μ
Breite der vegetativen Zelle. .	3,2 μ bis 3,7 μ	2 μ bis 2,7 μ

Die Form der Sporen entspricht dem Namen Cylindrospermum eigentlich wenig, sie ist länglich elliptisch bis rautenförmig. Über sonstige Artmerkmale gilt das Gleiche wie bei den vorhergehenden Spezies.

D. Cylindrospermum catenatum Ralfs. (Tafel V, 5.)

Die Anhäufungsversuche mit Naumburger Gartenerde lieferten auch diese Art. Die glatten, länglichen, grüngelben Sporen liegen reihenweise, meist je drei, hintereinander. Für Messungen darf man nur die älteste, d. h. die äußerste Spore verwenden, die beiden folgenden sind jünger, daher auch meist noch grün und kleiner. Nach vollendeter Sporenreife fällt die Kette auseinander und die Sporen liegen einzeln. In Kulturen ähnelt diese Art sehr der C. muscicola; die Farbe ist ebenfalls geblich und wie diese hat sie in Erlenmeyerkölbchen häufig das Bestreben, sich zu Klumpen und Kugeln zu verfilzen. Auch die Farbe der vegetativen Fäden sowie ihre verhältnismäßig große Länge erinnert an erstere Art. Die Gewinnung dieser Alge bereitete zuerst einige Schwierigkeiten, da nur sehr wenig Material in den Anhäufungskulturen vorhanden war. Das gute Wachstum auf Petrischalen mit Kieselgallerte verschaffte mir aber eine große Anzahl üppiger Rasen. Folgende Maße wurden festgestellt:

	Eigene Messungen	Messungen nach Lemmermann
Länge der Sporen	13 μ bis 19 μ	13 μ bis 18 μ
Breite der Sporen	8,5 μ bis 12,2 μ	7 μ bis 10 μ
Länge der Heterocysten	5,4 μ bis 7,1 μ	6 μ bis 7 μ
Breite der Heterocysten	4 μ bis 5,1 μ	4 μ
Länge der vegetativen Zelle . .	3 μ bis 5 μ	4 μ bis 5 μ
Breite der vegetativen Zelle . .	3 μ bis 3,5 μ	4 μ

Lemmermann gibt ferner an, die Farbe der Spore wäre goldgelb, während die von mir untersuchten Dauerzellen nur gelblichgrün waren. Es handelt sich demnach wohl um eine heller gefärbte Rasse von C. catenatum.

E. Cylindrospermum majus Kütz. (Tafel V, 6.)

Während sämtliche bisher beschriebenen Arten eine glatte Außenschicht der Spore besaßen, fand sich in den Naumburger Anhäufungskulturen eine Art mit papillöser Außenschicht. Diese Eigenschaft wurde nicht sofort erkannt, weil sich die Papillen erst ganz zum Schluß des Sporenreifungsprozesses bilden. Ich glaubte daher zuerst eine neue Art gefunden zu haben; nachdem aber meine Kulturen das genügende Alter von ungefähr zwei Monaten erreicht hatten, wurde dieser Irrtum erkannt. Die einzeln liegenden, sehr großen Sporen hatten nunmehr eine tiefbraune Farbe angenommen, und im optischen Durchschnitt konnte man erkennen, daß der Außenschicht kleine

papillenartige Erhebungen aufgesetzt waren. Interessant für diese Art ist es auch, daß die Außenschicht durch Drücken und Bewegen des Deckglases leicht von der darunterliegenden, farblosen Schicht getrennt werden konnte, was bei den übrigen Spezies nicht oder doch nur sehr schwer gelang. Diese Schicht muß also aus einem sehr spröden Material bestehen. Kalkeinlagerungen enthält sie jedoch nicht. Charakteristisch war ferner das außerordentlich langsame Wachstum, sowohl auf Kieselgallerte, als auch in Flüssigkeit. Folgende Messungen wurden vorgenommen:

	Eigene Messungen	Messungen nach Lemmermann
Länge der Sporen	28 μ bis 37,3 μ	20 μ bis 38 μ
Breite der Spore	12,3 μ bis 15,4 μ	10 μ bis 15 μ
Länge der Heterocyste	6,8 μ bis 8,9 μ	bis 10 μ
Breite der Heterocyste	5,3 μ bis 6,1 μ	nicht angegeben
Länge der vegetativen Zelle . .	3 μ bis 5,4 μ	3 μ bis 6 μ
Breite der vegetativen Zelle . .	3,4 μ bis 4,8 μ	3 μ bis 5 μ

Für diese Art ist auch wieder die Keimung sehr charakteristisch.

b. Die Entstehung und Keimung der Spore.

Der vegetative Faden eines Cylindrospermum hat an seinen Enden, aber auch nur dort, nie in der Mitte des Fadens, wie bei Nostoc, Heterocysten. Der Zweck dieses Gebildes ist für Nostoc wohl ziemlich klar. An den Stellen, wo die Heterocyste nämlich die Zellreihe unterbricht, fällt der Faden auseinander. Die Teilstücke wachsen dann wieder heran, und man kann überall in üppig wachsenden Kulturen die herumliegenden Heterocysten des alten Fadens sehen. Ganz anders verhält sich jedoch die Sache bei Cylindrospermum. Die kegelförmigen Endzellen des jungen Fadens werden farblos und werden zur Heterocyste. Der Faden bricht bei der Vermehrung an einer beliebigen nicht präformierten Stelle durch. In den Teilstücken werden dann wieder die an die Bruchstelle angrenzenden Zellen zu Heterocysten umgebildet. Man nennt diese Gebilde wohl am einfachsten mit Lemmermann Grenzzellen. Es gelang mir nicht, irgend einen Zweck, den diese Zellen haben könnten, herauszufinden. Da sie nach der Reife der Sporen auf letzteren sitzen bleiben, so glaubte ich, daß sie für die Richtung, nach welcher die Dauerzelle auskeimt, von irgend welcher Bedeutung sein könnten. Nun keimt die Spore aber nur bei C. licheniforme und C. majus nach den Enden zu aus; dazu ergaben genauere Beobachtungen, daß dies ganz regellos bald nach dem Ende, dem die Grenz-

zelle aufsitzt, bald nach dem anderen hin geschieht. Die Lage der Grenzzelle übt darauf offensichtlich gar keinen Einfluß aus.

Die Entstehung der Spore ist sehr einfach. Die beginnende Sporenbildung macht sich zuerst dadurch bemerkbar, daß die hinter der Grenzzelle gelegene vegetative Zelle bedeutend an Länge zunimmt. Erst nachdem sie das drei- bis vierfache der ursprünglichen Länge erreicht hat, beginnt sie auch in die Dicke zu wachsen und die Gestalt, die für die Spore charakteristisch ist, anzunehmen.

Bei Gelegenheit der Sporenkeimungsversuche machte ich nun folgende Bemerkung. Auch in einer Kultur, die schon reife Sporen enthält, findet man, wie auf Kieselgallerte gut zu beobachten ist, häufig ganz junge, eben im Entstehen begriffene Sporen, wie sie oben beschrieben wurden. Auf diese Kulturen wurde nun, um die Keimung zu veranlassen, frische Nährlösung gegossen. Dann konnte man beobachten, daß diese jungen Sporen in der frischen Lösung sich nicht etwa weiter entwickeln, sondern wieder zu vegetativen Zellen zurückgebildet wurden. Die junge Dauerzelle, die doch immerhin schon dicker war als der übrige Faden, bekam Querwände, gewöhnlich gleich drei bis vier. Durch weiteres Wachstum wurde dann auch die Dicke dieser Zellen wieder auf das Normalmaß reduziert. Unterbrach man das Wachstum jedoch nicht derartig, so nahm die Spore immer mehr an Größe zu und ihre Haut gliederte sich in mehrere Schichten. Erst nach Abschluß des Wachstums bildete sich dann in der Außenhaut der charakteristische Farbstoff, der, wie schon erwähnt, bei C. licheniforme forma Lemmermanni die eigentümliche Eigenschaft hat, sich teilweise im Wasser zu lösen. Daß es sich nur um geringe Mengen handeln kann, die gelöst werden, geht wohl daraus hervor, daß die Sporen noch tiefbraun aussehen, wenn sie monatelang im Wasser gelegen haben.

Von der chemischen Beschaffenheit der Sporenhaut kann ich nur aussagen, daß sie in Kalilauge verquillt und sich in konzentrierter Schwefelsäure teilweise löst. Ich untersuchte die Haut auf Cellulose, Cutin, Chitin und Eiweiß, aber niemals gelang es mir, eine einwandfreie Reaktion, wie ich sie mit Kontrollmaterial erhielt, zu erzielen. (Die Reaktionen wurden gemacht nach den Tabellen von Behrens. Verz. 1.) Eines konnte ich jedoch mit großer Bestimmtheit feststellen. Chitin, das ja nach den Arbeiten von F. G. Kohl (Verz. 4) und R. Hegler (Verz. 3) bei Cyanophyceen verbreitet sein soll, ist in der Haut von Cylindrospermum nicht enthalten. Weder in den Membranen der Spore noch in der Haut der vegetativen Zelle. Als Nachweis benutzte ich die sehr deutliche Chitosanreaktion. (Wester, Studien über das Chitin. Verz. 14.) Kleine Glasröhrchen von 10 cm Länge wurden mit sechzigprozentiger Kalilauge fast ganz gefüllt. Dann wurde teils

Cylindrospermummaterial, teils zur Kontrolle Insektenflügel und Pilzsubstanz hinzugefügt. Darauf wurden die Glasröhrchen zugeschmolzen und im Ölbade langsam und gleichmäßig auf 160° erhitzt. Nach dem Erkalten wurde die Algensubstanz sowie die Kontrollproben solange mit Alkohol ausgewaschen, bis keine basische Reaktion mehr eintrat, und dann langsam in Wasser überführt. Die Algen mußten zu diesem Zwecke zentrifugiert werden, da sie durch die Behandlung mit heißer Kalilauge stark zersetzt worden waren. Man konnte jedoch unter dem Mikroskop die Strukturen der Sporen noch gut erkennen. Mit Jod und schwacher Schwefelsäure trat dann bei der tierischen Substanz eine lebhafte, bei den Pilzen eine nur schwache Violettfärbung ein, ein Zeichen, daß sich das in ihnen befindliche Chitin in Chitosan umgesetzt hatte. Die Algen blieben trotz wiederholt angestellter Versuche, auch mit konzentrierter Schwefelsäure, die auch die geringsten Spuren von Chitosan anzeigen muß, ungefärbt. Ich führte dieses Experiment aus für C. licheniforme forma typica und C. muscicola. Die Gattung Cylindrospermum enthält also wohl sicher kein Chitin.

Erfolgreicher als diese mikrochemischen Untersuchungen waren die Versuche, die ich zur Beobachtung der Sporenkeimung anstellte. Zuerst bereitete freilich die Methodik recht erhebliche Schwierigkeiten. Am geeignetsten für die Beobachtung des Vorganges erschienen mir zunächst Deckglaskulturen mit Hängetropfen. Diese ersten Versuche wurden nur mit C. licheniforme form. typ. ausgeführt. Da meine physiologischen Untersuchungen zu dieser Zeit noch nicht weit genug gediehen waren, um zu wissen, welche Nährlösungen für die Keimung die vorteilhaftesten waren, so setzte ich eine größere Anzahl von Kulturen mit verschiedenen Salzen in mehreren Konzentrationen an. Unter ihnen befand sich auch die, welche sich später als geeignet erwies.

Die ganze Versuchsanordnung krankte freilich an all den Unzulänglichkeiten, die schon in der Methodik angeführt wurden. Meist lagen auch die geimpften Sporen so dicht, daß man keine Einzelheiten erkennen konnte. Dann war der Hängetropfen oft so groß, daß man mit starker Vergrößerung nicht an das zu beobachtende Objekt herangelangen konnte, oder er war zu klein, so daß er eintrocknete. Diese Kulturen wurden jedoch nicht weniger als fünfmal wiederholt, es wurde schließlich auch ein Ansatz zur Keimung beobachtet. Die Spore platzte auf, und der Inhalt schlüpfte heraus, veränderte sich jedoch nicht weiter. Der ganze Vorgang machte einen recht krankhaften Eindruck.

Die Beobachtung der Keimung gelang endlich gut mit Hilfe der alten Kieselgallertekulturen. Wenn die Sporen in denselben reif geworden waren, dann starben die vegetativen Zellen, wenigstens bei

C. minutissimum, C. licheniforme und C. majus, meistens ab, sei es, weil sie Stoffe an die Sporen abgegeben hatten, sei es, weil die Nährlösungen erschöpft waren. In den zu dieser Zeit nur vorhandenen Kulturen auf Kieselsäure mit Leitungswasser + 0,02% K_2HPO_4 trat dieser Zustand nach ungefähr zwei Monaten ein. Wenn man eine solche Petrischale dann durchsah, konnte man die Sporen einzeln deutlich unterscheiden. Es kam nun darauf an, diesen Dauerzellen eine neue Nährlösung zu geben, und zwar eine solche, die das vegetative Wachstum beförderte. Die physiologischen Untersuchungen waren zu dieser Zeit so weit fortgeschritten, daß eine gute Nährlösung für jede Art bekannt war. Diese Lösung wurde also jedesmal angesetzt, in einem Erlenmeyerkolben sterilisiert und dann auf die nur wenig geöffnete Petrischale gegossen. Sie wurde dann 24 Stunden auf der Kieselgallerte belassen und darauf vorsichtig wieder abgegossen. In dieser Zeit waren die in der Lösung enthaltenen Salze in die Gallertschicht hineindiffundiert. Irgend welche Infektion trat bei all diesen Prozeduren nicht ein, wenn man keine Vorsichtsmaßregel außer acht ließ.

Mit Hilfe dieses Verfahrens gelang es, bei allen Arten, mit Ausnahme von C. licheniforme form. Lemm., die Keimung zu beobachten. Für C. muscicola und C. catenatum mußte der Versuch freilich etwas anders angeordnet werden. Diese beiden Arten bildeten, wie schon erwähnt wurde, in Petrischalen dicke Polster. Auch starben die vegetativen Fäden nicht ab. Es wurde daher von den Rasen einfach ein kleines Stückchen auf eine andere Petrischale mit optimaler Nährlösung in Kieselgallerte übergeimpft. Dann trat die Keimung sofort ein. Nur C. licheniforme form. Lemm. war auf diese Weise gar nicht zum Keimen zu bringen, ein deutlicher Unterschied von form. typica, wo dies leicht gelang. Von jener Art wurde schließlich eine größere Anzahl von Erlenmeyerkulturen mit trockenen Sporen angesetzt. Die Dauerzellen mußten dann mit der Pipette herausgenommen werden, um sie mikroskopisch beobachten zu können.

Da die vegetativen Fäden zuerst bei C. minutissimum zerfielen, so war diese Art auch die erste, bei der die Beobachtung der Keimung gelang. Ich durchsuchte die Petrischale von der Rückseite mit schwacher Vergrößerung. Nachdem ich mich dann überzeugt hatte, daß die Sporen im Keimen begriffen waren, wurde die Kultur geöffnet. Meist haftete der Kieselgallerte oberflächlich noch Feuchtigkeit an von der darübergegossenen und nachträglich wieder entfernten Nährlösung, so daß man auf die vorher von außen bezeichnete Stelle ein Deckglas legen konnte. Mit Immersion konnte dann in der offenen Petrischale die Keimung in ihren einzelnen Phasen verfolgt werden. Das Auflegen des Deckglases schadete den Sporen gar nicht, der Vorgang lief ruhig weiter.

Protokoll zur Keimung von C. minutissimum: Am 23. X. 12 wurde auf eine alte Kieselgallertekultur frische Nährlösung (0,1% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Spur Fe) aufgegossen und nach 24 Stunden wieder entfernt. Am 21. XI. 12 wurde mit schwacher Vergrößerung eine große Anzahl von Sporen beobachtet, die in Keimung begriffen waren. Am 22. XI. und am 23. XI. konnten durch das aufgelegte Deckglas mit Immersion alle Stadien der Keimung beobachtet und mit dem Zeichenapparat festgehalten werden.

Der Inhalt der Spore hellt sich zunächst auf und schnürt sich in der Mitte unter Bildung einer Querwand ein. (Tafel VI, 1a.) Darauf zerreißt unter neuer Querwandbildung die Sporenhaut, meist auf einer Seite. (Tafel VI, 1b.) Die Haut klappt nun auseinander und der junge Faden, der inzwischen noch eine Querwand gebildet hat, schiebt sich heraus. (Tafel VI, 1c und d.) Der Faden besitzt noch die Dicke der Spore und wird erst ganz allmählich auf die normalen Abmessungen der vegetativen Fäden reduziert. Man kann dabei beobachten, daß die junge Zellreihe in der Mitte am dicksten ist und sich nach beiden Seiten hin verjüngt. (Tafel VI, 1e u. f) Im Laufe immer neuer Teilungen verwischt sich dann der Dickenunterschied ganz allmählich. Der Faden kriecht vollkommen aus der Sporenhaut heraus und die beiden Endzellen, die schon vorher kegelförmige Gestalt hatten, werden farblos und zu Heterocysten. Jedes einzelne Stadium, wie es auf den Zeichnungen zu sehen ist, wurde natürlich in großer Zahl beobachtet. Durch Markierung konnte festgestellt werden, daß die einzelnen Entwicklungsstufen in der angegebenen Reihenfolge auftraten. Die ganze Petrischale, die vorher, nach der Sporenreife, durch das Absterben der vegetativen Zellen gelblich geworden war, erhielt nach der Keimung ihre gesunde, blaugrüne Farbe zurück.

Dieselbe Methode wurde zunächst bei Cylindrospermum licheniforme form. typ. wiederholt. Einige Einzelheiten mögen hier aus den Protokollen angegeben werden: Am 27. XI. 12 wurden folgende Petrischalen, die ursprünglich Kieselgallerte mit Leitungswasser + 0,02% K_2HPO_4 enthalten hatten, mit geeigneter Nährlösung (0,1% $Ca(NO_3)_2$ etc.) beschickt: Nr. 35 vom 1. VII. 12; Nr. 75 vom 31. VII. 12 und Nr. 102 vom 26. VIII. 12. Am 2. XII. 12 waren in Nr. 102 die ersten Stadien zu sehen. Am 8. XII. 12 konnten in allen Schalen reichliche Mengen keimender Sporen beobachtet werden.

Der Verlauf des Prozesses unterscheidet sich in seinen Einzelheiten von C. minutissimum. Wenn die rötlich-braun gefärbte Spore sich zur Keimung anschickt, wird jedesmal das eine Ende hell-blaugrün gefärbt. (Tafel VI, 2a.) Auf der Seite, wo dies der Fall ist, wird dann die Sporenwand durchbrochen. Fig. 2b, 2c, Tafel VI,

illustrieren gleichzeitig, was schon weiter oben gesagt war, nämlich, daß die Heterocyste nicht auf die Richtung der Keimung einwirkt. Die Hüllen der Dauerzelle platzen an dem kurzen Ende auf, werden zurückgeklappt (Tafel VI, 2b), manchmal aber auch in Bruchstücken von der Spitze des jungen Fadens fortgeschoben. (Tafel VI, 2c.) Der Inhalt der Spore wächst schlauchartig aus der Umhüllung heraus, ohne daß zunächst eine Querwand gebildet wird. Dann werden auf einmal, nachdem der Faden um die halbe Länge der Spore herausgewachsen ist, gleich drei bis vier Querwände gebildet. (Tafel VI, 2d.) Schon bei den soeben beschriebenen Vorgängen wird die Dicke des Fadens reduziert, das geht nun weiter unter fortwährenden Neubildungen von Querwänden. (Tafel VI, 2e.) Der junge Faden ist jedoch immer an allen Punkten von ungefähr der gleichen Dicke, er verjüngt sich nicht nach den Enden zu, wie bei C. minutissimum. Die weitere Entwicklung verläuft dann ganz analog der zuerst beschriebenen Art. Es konnte noch festgestellt werden, daß auch nicht vollkommen reife Sporen auskeimten. Ich beobachtete diese Tatsache dann auch bei allen Spezies. Wenn die Dauerzellen jedoch noch sehr jung waren, dann verließ ihr Inhalt nicht die Haut, sondern bildete sich mit derselben, wie zu Beginn des Kapitels beschrieben wurde, zu vegetativen Zellen um.

Ähnlich, wie bei der soeben beschriebenen Art, verlief die Keimung bei C. majus. Die Methode war genau dieselbe; alte Petrischalen wurden mit der geeignetsten Nährlösung, in diesem Falle 0,05% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe, versehen, worauf die Sporen nach einiger Zeit auskeimten. Am 12. VIII. 13 wurde der Versuch angesetzt, schon am 18. VIII. konnten die ersten Stadien beobachtet werden. Am 19. VIII. wurden dann die Einzelheiten mit dem Zeichenapparat festgehalten. Wie bei C. licheniforme form. typ. wird die dunkel gefärbte, sehr derbschalige Spore an einem Ende aufgehellt. (Tafel VI, 3a.) An dieser Stelle tritt dann der Keimling heraus. Oft wird dabei die ganze Hülle, die wohl sehr spröde sein muß, in Fetzen zerrissen. (Tafel VI, 3b.) Der junge Faden teilt sich dann in eine Anzahl von Zellen und reduziert ganz allmählich seine Dicke auf das Normalmaß. (Tafel VI, 3c, d.) Das eine Ende des jungen Fadens bleibt oft sehr lange in der leeren Schale stecken.

Bei der nächsten Art, Cylindrospermum muscicola, sowie bei C. catenatum mußte, wie schon erwähnt, auf neue Kieselgallerteplatten übergeimpft werden. Der Rasen wurde vorher auf einer Glasplatte dermaßen auseinander gezupft, daß das geimpfte Stück sich gut ausbreitete und durchsichtig wurde. Am 22. I. 13 hatte ich derartige Kulturen angesetzt. Die ersten Ansätze zur Keimung konnten

dann am 5. II. 13 bemerkt werden. Am 7. II. 13 war ein großer Teil der Sporen im Keimen begriffen, alle Stadien konnten gezeichnet werden. Die Sporenwand reißt bei dieser Art bald an der Seite, (Tafel VI, 4b, 4d) bald an einem Ende auf. (Tafel VI, 4a, 4c.) Wie bei C. licheniforme form. typ. tritt aber eine Querwandbildung erst sehr spät auf, nachdem der Inhalt der Dauerzelle schlauchförmig aus der Schale herausgewachsen ist. (Tafel VI, 4c, 4d.) Bemerkenswert ist noch, daß der junge Faden (Tafel VI, 4g) sich oft schon nach wenigen Teilungen gänzlich aus der Sporenhaut befreit. Er reduziert dann seine Dicke ebenfalls ganz allmählich und gleichmäßig. (Tafel VI, 4d, 4e, 4f.)

Cylindrospermum catenatum gleicht der soeben beschriebenen Art auch im Keimungsvorgang sehr. Die Schale wird nur nach der Seite durchbrochen. Der Inhalt der Spore wächst zuerst schlauchförmig heraus, besser gesagt, er kriecht heraus (Tafel VI, 5a, 5b, 5c) und teilt sich dann in eine Anzahl von Zellen. (Tafel VI, 5d.) Manchmal verläßt er die Hüllen schon vor der Querwandbildung vollständig (Tafel VI, 5c.) In anderen Fällen konnte ich jedoch auch beobachten, daß er sehr lange mit dem einen Ende in der leeren Schale hängen blieb. (Tafel VI, 5e.) Die Versuche mit dieser Alge wurden angesetzt am 12. VIII. 13. Am 18. VIII. begann die Keimung, am 19. VIII. 13 wurden sämtliche Stadien gesehen.

Die größte Schwierigkeit verursachte Cylindrospermum licheniforme form. Lemmermanni. Bei dieser Form versagten sämtliche bisher angewandten Methoden. Während forma typica durch Aufgießen von geeigneter Nährlösung sofort veranlaßt wurde, in den vegetativen Zustand überzugehen, blieb forma Lemm. dadurch vollkommen unverändert, obwohl sehr gute, ausgereifte Kulturen zu den Versuchen benutzt wurden. Es gelang schließlich doch, die Keimung zu beobachten, wenn ich, wie zu Anfang dieses Kapitels beschrieben, die Sporen in Nährlösung brachte. Die Art der Keimung gleicht der bei form. typ. beobachteten. Die Spore hellt sich ebenfalls an einem Ende auf (Tafel VI, 6a), der Inhalt schiebt sich ein wenig heraus (Tafel VI, 6b), und darauf setzt die Querwandbildung ein. (Tafel VI, 6c, d.) Es ist noch zu bemerken, daß diese Art nur sehr schlecht keimt. Der größte Teil der Dauerzellen bleibt vollkommen unverändert, und nur mit großer Mühe kann man die einzelnen Stadien verfolgen. Der Versuch wurde angesetzt am 18. X. 13. Erst am 10. u. 11. XI. konnten einige Keimungen beobachtet werden.

Zum Schluß sollen die Resultate der Sporenkeimung, wie Art und Weise der Keimung, die Zeit, die zwischen dem Aufgießen der frischen Nährlösung und dem Auskeimen verstreicht und andere charakteristische Daten in einer Tabelle zusammengestellt werden.

Untersuchte Arten	Zeit, die verstrich zwischen Ansetzung des Versuchs und Keimung	Nährlösung, in der die Keimung erfolgte	Sonstige Bemerkungen
Cylindrospermum licheniforme form. typ.	5 bis 6 Tage	0,1% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe	Die Spore keimt nach dem kurzen Ende zu aus. Querwandbildung erst sehr spät.
Cylindrospermum licheniforme form. Lemmerm.	23 bis 24 Tage	0,05% $Ca(NO_3)_2$ etc.	Die Spore keimt nach dem kurzen Ende zu aus. Die Art keimt sehr schlecht.
Cylindrospermum majus	6 bis 7 Tage	0,05% $Ca(NO_3)_2$ etc.	Die Spore keimt nach dem kurzen Ende zu aus. Die Haut ist sehr spröde.
Cylindrospermum minutissimum	30 bis 32 Tage	0,1% $Ca(NO_3)_2$ etc.	Die Sporen keimen nicht gleichartig aus. Der junge Faden ist nach den Enden zu verjüngt.
Cylindrospermum muscicola	15 bis 16 Tage	0,01% $Ca(NO_3)_2$ etc.	Die Sporen keimen nicht gleichartig aus. Querwandbildung erst sehr spät.
Cylindrospermum catenatum	6 bis 7 Tage	0,01% $Ca(NO_3)_2$ etc.	Die Spore keimt nur nach den Seiten zu aus. Der Keimling verläßt manchmal schon sehr früh die Hülle.

IV. Physiologie.

a. Ermittlung geeigneter Wachstumsbedingungen.

Nachdem die einzelnen Arten speziesrein gewonnen waren und sämtlich in üppigen Kulturen (Leitungswasser + 0,02% K_2HPO_4 + Spur Erdabkochung) vorlagen, mußten die Ernährungsbedingungen eingehend untersucht werden. Es war also die Aufgabe gestellt, herauszufinden, welche Salzgemische die geeignetsten sind. Da es nicht feststand, ob der Stickstoff der Luft verwendbar ist, so mußten die einzelnen Stickstoffsalze durchprobiert werden.

Als geeigneter Nährboden hatten sich Gipsblöcke sowie Tonplatten ergeben. Die Algen breiteten sich auf diesen Substraten gut aus und machten einen sauberen Eindruck. Daher wurde der erste Versuch mit den verschiedenen Stickstoffsalzen in Deckelschalen mit Gipsblöcken angestellt. Es kamen zur Verwendung Kaliumnitrat, Kaliumnitrit, Ammoniumsulfat, Ammoniumphosphat, Ammoniummagnesiumphosphat und Kalziumnitrat. Um die Wirkung dieser verschiedenen Salze mit derjenigen der in den Anhäufungskulturen gebotenen Stick-

stoffspuren zu vergleichen, wurde gleichzeitig eine Kultur mit Leitungswasser + 0,02% K_2HPO_4 + Spur Erdabkochung angesetzt.

Je zwei Schalen wurden also ungefähr 1 cm hoch gefüllt mit:
0,05% KNO_3 + 0,02% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4 \cdot 2H_2O$ + Sp. Fe.
0,05% KNO_2 + 0,02% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4 \cdot 2H_2O$ + Sp. Fe.
0,05% $(NH_4)_2SO_4$ + 0,02% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4 \cdot 2H_2O$ + Sp. Fe.
0,05% $(NH_4)_2HPO_4$ + 0,02% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ + 0,02% K_2HPO + Sp. $CaSO_4 \cdot 2H_2O$ + Sp. Fe.
Spur NH_4MgPO_4 + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4 \cdot 2H_2O$ + Sp. Fe.
0,01% $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ + 0,02% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe.
Leitungswasser + 0,02% K_2HPO_4 + Spur Erdabkochung.

In der Folge werden die Kristallwassermengen nicht jedesmal wieder mit verzeichnet werden.

Am 31. VII. wurde dieser Versuch mit C. licheniforme form. typ. angesetzt. Das Resultat war folgendes:

Angesetzt am 31. VII. 12	am 17. VIII.	am 2. IX.
1) 0,05% KNO_3 etc.	Gutes Wachstum, aber sehr dünner Rasen	Gutes Wachstum, etwas braun (Sporen).
2) 0,05% KNO_2 etc.	Die Fäden sind ausgebreitet, aber nicht gewachsen	Nicht gewachsen.
3) 0,05% $(NH_4)_2SO_4$ etc.	Geringes, aber gesundes Wachstum	Geringes Wachstum, grün, Sporen noch nicht gebildet.
4) 0,05% $(NH_4)_2HPO_4$ etc.	Sehr gutes Wachstum	Sehr gutes Wachstum, tiefbraun (Sporen).
5) Spur NH_4MgPO_4 etc.	Gutes Wachstum, Rasen sehr dünn	Ganz dünne Schicht geblieben, etwas braun.
6) 0,1% $Ca(NO_3)_2$ etc.	Wachstum wie bei Nr. 4	Sehr gutes Wachstum, noch keine Sporen gebildet.
7) Leitungswasser etc.	Gutes Wachstum, doch geringer als 4 u. 6	Gutes Wachstum, braun (Sporen).

Dieses Protokoll läßt erkennen, daß auf Gipsblöcken mit Ausnahme von KNO_2 jedes N-Salz das Wachstum mehr oder minder fördert. Die gut gewachsenen Kulturen, auch Nr. 6, deren vegetatives Wachstum sehr üppig war, lieferten im Laufe des Winters eine dicke Sporenschicht, wobei sich die Unterschiede, die noch am 2. IX. vorhanden waren, verwischten. Da jedoch der Gips allerhand Fremd-

stoffe enthält, so kann man aus diesem Versuch noch keine Schlüsse über den Verbrauch der gebotenen Salze ziehen. Es wurden daher dieselben Lösungen in Erlenmeyerkolben mit Flüssigkeit noch einmal wiederholt. Die in der Methodik angegebene Reinigung der Kolben und des Wassers sowie die Verwendung von Salzen von Merck und Kahlbaum gilt für alle folgenden Versuche.

Cylindrospermum licheniforme form. typ.

Angesetzt am 14. VIII. 12	Resultat am 25. IX. 12
0,05% KNO_3 etc.	Bleich geworden, kein Wachstum.
0,05% KNO_2 etc.	Bleich geworden, kein Wachstum.
0,05% $(NH_4)_2SO_4$ etc.	Bleich geworden, kein Wachstum.
0,05% $(NH_4)_2HPO_4$ etc. . . .	Noch grün, aber nicht gewachsen.
Spur NH_4MgPO_4 etc.	Bleich geworden, kein Wachstum.
0,1% $Ca(NO_3)_2$ etc.	Sehr gutes Wachstum.
Leitungswasser etc.	Sehr gutes Wachstum, doch geringer als bei 0,1% $Ca(NO_3)_2$ etc.

Die Resultate von E. Pringsheim (Verz. 8), daß Gips ebenso wie Agar und Kieselgallerte die Schädlichkeit eines Salzes vermindert, fand sich also bestätigt. Die Konzentration der Salze, mit Ausnahme von Kalziumnitrat, war, wie sich später zeigte, noch zu hoch.

Es wurden nunmehr eine große Anzahl von Versuchsserien angesetzt, natürlich nur reine Flüssigkeitskulturen in Erlenmeyerkölbchen, die darauf hinzielten, für die verschiedenen Arten die beste Konzentration der einzelnen Stickstoffsalze zu finden.

Die schon angegebenen N-Salze wurden nun der sonst gleichen stickstofffreien Nährlösung zugesetzt, und zwar bei den ersten Serien in folgenden Konzentrationen: 0,5%; 0,1%; 0,05%; 0,01%. Sodann wurde jedesmal auch eine Kontrollkultur gänzlich ohne Stickstoffsalz hinzugefügt. Anfangs kultivierte ich in weiten Reagensröhren, um den Platz an dem Nordfenster, wo die Kulturen an Drähten aufgehängt wurden, möglichst auszunutzen. Es zeigte sich jedoch, daß dadurch kleine Ungenauigkeiten entstehen können. Die Flüssigkeitssäule ist zu hoch, so daß ein zufällig untergesunkenes Impfstück andere Verhältnisse findet als ein an der Oberfläche schwimmendes. Dadurch kann natürlich ein verschiedenes Wachstum entstehen. Es wurden daher vom zweiten Versuch an nur noch Erlenmeyerkölbchen benutzt, in denen auch untergesunkene Fäden gut anwachsen. Um festzustellen, ob sich Cylindrospermum ebenso verhält wie Nostoc, wurden gleichzeitig C. licheniforme form. typ. und Nostoc spec. angesetzt.

Da die Resultate des Reagensglasversuches noch ziemlich verwischt

waren, so kann die Aufzeichnung des Protokolls wohl unterbleiben. Es konnte jedoch schon konstatiert werden, daß die verschiedenen N-Salze von Cylindrospermum erst in der Konzentration von 0,01% vertragen wurden, während Nostoc schon in 0,1% wuchs. Eine Ausnahme bildete wieder Kalziumnitrat, dessen Optimum für Cylindrospermum bei 0,1 Prozent lag. Die Kontrollkulturen mit N-freier Nährlösung zeigten sowohl für Nostoc als auch für C. lich. form. typ. kein Wachstum.

Der zweite Versuch in Erlenmeyerkölbchen zeigte die Ergebnisse mit größerer Genauigkeit. Das Protokoll soll deshalb hier angegeben werden. (0 = nicht gewachsen, + ? = mäßiges, + = gutes, + + = sehr gutes Wachstum.)

Geimpft am 24. X. 12	Nostoc spec. am 5. XII. 12	C. lich. f. typ. am 5. XII. 12
0,5% KNO_3 + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	0	0
0,1% KNO_3 + . . . etc.	+	0
0,05% KNO_3 + . . . etc.	+ +	0
0,01% KNO_3 + . . . etc.	+	+, doch wurden niemals Sporen gebildet
0,5% KNO_2 + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	0	0
0,1% KNO_2 + . . . etc.	+ ?	0
0,05% KNO_2 + . . . etc.	+	0
0,01% KNO_2 + . . . etc.	+, doch etwas geringer als bei 0,05% KNO_2	+ keine Sporen
0,5% $(NH_4)_2SO_4$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	0	0
0,1% $(NH_4)_2SO_4$ + . . . etc.	+	0
0,05% $(NH_4)_2SO_4$ + . . . etc.	+ +	0
0,01% $(NH_4)_2SO_4$ + . . . etc.	+ ?	+, die Kulturen wurden später braun (Sporen waren gebildet)
0,5% $(NH_4)_2HPO_4$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	0	0
0,1% $(NH_4)_2HPO_4$ + . . . etc.	+	0
0,05% $(NH_4)_2HPO_4$ + . . . etc.	+ +	+ ?
0,01% $(NH_4)_2HPO_4$ + . . . etc.	+ ?	+ +, Sporen gebildet

Geimpft am 24. X. 12	Nostoc spec. am 5. XII. 12	C. lich. f. typ. am 5. XII. 12
0,5% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe	0	0
0,1% $Ca(NO_3)_2$ + . . . etc.	+ ?	+ +, besser als in sämtlichen übrigen Kulturen. Reichliche Sporenbildung
0,05% $Ca(NO_3)_2$ + . . . etc.	+ +	+
0,01% $Ca(NO_3)_2$ + . . . etc.	+ ?	+ ?
Kontrolle: N-frei Spur $CaSO_4$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe	0	0

Aus diesem Protokoll geht nun folgendes hervor. Die verschiedenen Stickstoffsalze fördern das Wachstum von C. lich. form. typ. mehr oder minder gut, sogar in Kaliumnitrit wuchs die Alge, jedoch sind die meisten nur in der geringen Konzentration von 0,01 Prozent verwendbar. Eine Ausnahmestelle nimmt Kalziumnitrat ein. Bei diesem Salz liegt das Wachstumsoptimum bei 0,1 Prozent. Die Ammonsalze und Kalziumnitrat sind dem Kaliumnitrat sowie dem Kaliumnitrit überlegen, nur bei ersteren beiden reiften bei genügendem Alter der Kulturen die Sporen, wodurch die Algenrasen eine tiefbraune Farbe annahmen. In den beiden letzten Salzen trat diese Färbung nie ein. Eine mikroskopische Untersuchung zeigte, daß Sporen gänzlich fehlten. Nostoc hat durchweg ein höheres Optimum, und zwar ist die günstigste Konzentration für alle Salze 0,05 Prozent. Unterhalb des Optimums nimmt das Wachstum deutlich ab, um bei beiden kultivierten Arten in gänzlich stickstofffreier Nährlösung vollkommen auszubleiben.

Die weitere Aufgabe bestand nun darin, zu untersuchen, wie sich die übrigen zur Verfügung stehenden Cylindrospermumarten in den verschiedenen Nährlösungen verhielten. Die Konzentration 0,5 Prozent konnte ohne Bedenken weggelassen werden, da in ihr nie ein Wachstum zu verzeichnen gewesen war. Im Januar und April 1913 wurden mit Cyl. muscicola und Cyl. minutissimum zwei ähnliche Versuche angestellt. Die gut gewachsenen Kulturen von Serie I wurden nach Abbruch der Untersuchung aufbewahrt und konnten bei der Beurteilung der Serie II zum Vergleich herangezogen werden. Es folgen die Protokolle (die Zeichen sind, wie in allen folgenden, die vereinbarten) (siehe nächste Seite).

Die beiden Arten verhalten sich also den Nährlösungen gegenüber etwas anders, als C. lich. form. typ. Für C. muscicola ist der Unterschied zwischen Kaliumnitrat und Nitrit einerseits und Ammonsalzen sowie Kalziumnitrat anderseits noch deutlicher als in dem früheren

Protokoll zu Serie I.

Angesetzt am 10. I. 13	C. muscicola am 27. II. 13	C. minutissimum am 27. II. 13
0,1% KNO_3 + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	0	0
0,05% KNO_3 + . . . etc.	0	0
0,01% KNO_3 + . . . etc.	+ ?	+ ? (sehr geringes Wachstum)
0,1% KNO_2 + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	0	0
0,05% KNO_2 + . . . etc.	0	0
0,01% KNO_2 + . . . etc.	0	0
0,1% $(NH_4)_2SO_4$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	0	0
0,05% $(NH_4)_2SO_4$ + . . . etc.	0	0
0,01% $(NH_4)_2SO_4$ + . . . etc.	+	0
0,1% $(NH_4)_2HPO_4$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	0	0
0,05% $(NH_4)_2HPO_4$ + . . . etc.	0	0
0,01% $(NH_4)_2HPO_4$ + . . . etc.	+	0
0,1% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe	+ ?	+ +
0,05% $Ca(NO_3)_2$ + . . . etc.	+ ?	0
0,01% $Ca(NO_3)_2$ + . . . etc.	+ +	0
Kontrolle: N-frei, Sp. $CaSO_4$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe	0	0

Versuche. Im Gegensatz zu der zuerst untersuchten Art liegt das Optimum für das letztgenannte Salz hier bei 0,01 Prozent. C. minutissimum ist die empfindlichste von allen untersuchten Arten, sie wuchs in Leitungswasser + 0,02% K_2HPO_4 nicht besonders gut, wirklich üppiges Wachstum zeigte sie erst in 0,1 Prozent Kalziumnitrat, sonst aber auch nirgends.

Der Kontrollversuch mit diesen beiden Arten wurde in etwas abgeänderter Form angestellt. Da in allen Salzen, außer Kalziumnitrat, in 0,1 Prozent kein Wachstum eingetreten war, so konnte diese Stufe weggelassen werden. Es wurde dafür noch eine niedrigere Konzentration von 0,005 Prozent eingeführt. Selbstverständlich blieb für Kalziumnitrat die Konzentrationsstufe 0,1 Prozent bestehen.

Protokoll zu Serie II.

Angesetzt am 12. III. 13	C. muscicola am 3. VI. 13	C. minutissimum am 3. VI. 13
0,05% KNO_3 + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	0	0
0,01% KNO_3 + . . . etc.	0, aber grün geblieben	0
0,005% KNO_3 + . . . etc.	0	0
0,05% KNO_2 + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	0	0
0,01% KNO_2 + . . . etc.	+ ? nur in einer Kultur	0
0,005% KNO_2 + . . . etc.	0	0
0,05% $(NH_4)_2SO_4$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	0, nur in einer Kultur grün geblieben	0
0,01% $(NH_4)_2SO_4$ + . . . etc.	+	0
0,005% $(NH_4)_2SO_4$ + . . . etc.	+ ?	0
0,05% $(NH_4)_2HPO_4$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	+ ?	0
0,01% $(NH_4)_2HPO_4$ + . . . etc.	+	0, nur in einer Kultur + ?
0,005% $(NH_4)_2HPO_4$ + . . . etc.	+, doch etwas geringer als bei 0,01%	0
0,1% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe	0	+ +
0,05% $Ca(NO_3)_2$ + . . . etc.	+	+ ?
0,01% $Ca(NO_3)_2$ + . . . etc	+ +	+ ?
0,005% $Ca(NO_3)_2$ + . . . etc.	+	0
Kontrolle: N-frei, Sp. $CaSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + 0,02% $MgSO_4$ + Sp. Fe	+, die Kulturen enthielten Pilze	0

In den stickstofffreien Kontrollkulturen wuchs bei diesem Versuch C. muscicola. Da jedoch Pilze in beiden Kölbchen wucherten, wurde die Nährlösung noch einmal frisch angestellt. Geimpft wurde aus der Kultur mit 0,005% Kalziumnitrat. Diesmal blieb das Wachstum vollständig aus.

Eine letzte Serie wurde noch angesetzt, und zwar mit den drei übrigen Arten, C. catenatum, C. majus und C. licheniforme form. Lemm. Zur Verwendung gelangten die Konzentrationen 0,01%; 0,05%; 0,01%.

Protokoll zu Serie III.

Angesetzt am 25. VII. 13	C. catenatum am 15. X. 13	C. majus am 15. X. 13	C. lich. f. Lemm. am 15. X. 13
0,1% KNO_3 + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	0	0	0
0,05% KNO_3 + . . . etc.	0	0	0
0,01% KNO_3 + . . . etc.	0	+ ?	+, Sporenbildung nur gering
0,1% KNO_2 + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	0	0	0
0,05% KNO_2 + . . etc.	0	0	0
0,01% KNO_2 + . . . etc.	0	+ ?	+ ?, Sporen nicht gebildet
0,1% $(NH_4)_2SO_4$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	0	0	0
0,05% $(NH_4)_2SO_4$ + . . . etc.	0	0 in einer Kultur ganz geringes Wachstum	0
0,01% $(NH_4)_2SO_4$ + . . . etc.	+ ?	+	+ Sporen gebildet
0,1% $(NH_4)_2HPO_4$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	0	0	0
0,05% $(NH_4)_2HPO_4$ + . . . etc.	0	+ ?	0
0,01% $(NH_4)_2HPO_4$ + . . . etc.	+	+	+ Sporen gebildet
0,1% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe	+ ?	+	+ + Sporen gebildet
0,05% $Ca(NO_3)_2$ + . . . etc.	+	+	+ + Sporen gebildet noch besser als in 0,1%
0,01% $Ca(NO_3)_2$ + . . . etc.	+ +	+ +	+ Sporen gebildet
Kontrolle: N-frei, Sp. $CaSO_4$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe	0	0	0

Diese Resultate schließen sich an die vorhergehenden recht gut an. C. catenatum und C. majus ähneln in ihrem Verhalten sehr C. muscicola. C. licheniforme form. Lemm. zeigte einige charakteristische Unterschiede von C. lich. form. typ. In der Tabelle ist zu diesem Zwecke mit vermerkt worden, ob Sporen gebildet wurden oder nicht. Wie bei der ersten Form bleibt die Bildung aus in Kaliumnitrat und Nitrit. In den Kulturen, die Sporen enthielten, machte sich dieser Umstand sofort bemerkbar durch die mehr oder weniger intensive Violettfärbung der Nährlösung. In den Kölbchen, die das beste Wachstum zeigten, war die Färbung am stärksten, in den übrigen entsprechend der Menge der gebildeten Sporen schwächer. Bei form. typ. behielt die Flüssigkeit auch in alten, sporenreichen Kulturen immer ihre Farblosigkeit. Ein weiterer Unterschied ist das Verhalten gegen Kalziumnitrat. Bei form. typ. liegt das Optimum ganz eindeutig bei 0,1 Prozent. Form. Lemm. hingegen zeigt das beste Wachstum bei 0,05 Prozent. In dem Kapitel über den Einfluß der Nährlösung auf Sporenbildung und Keimung werden diese Differenzen noch deutlicher hervortreten.

b. Die Frage der Stickstoffassimilation.

Die Beijerincksche Arbeit „Über oligonitrophile Mikroben" (Verz. 2) veranlaßte mich, nähere Untersuchungen darüber anzustellen, ob tatsächlich Cyanophyceen imstande seien, ihre organische Substanz aus der Kohlensäure und dem Stickstoff der Luft aufzubauen. Beijerinck selbst schreibt darüber, er verstehe unter oligonitrophilen Mikroben solche, welche bei freier Konkurrenz mit der übrigen Mikrobenwelt sich in Nährlösungen entwickeln, ohne absichtlich zugefügte Stickstoffverbindungen, aber auch ohne daß Fürsorge getroffen wird, um die letzten Spuren dieser Verbindungen zu entfernen. Sie haben das Vermögen, den atmosphärischen Stickstoff zu binden und zu ihrer Ernährung zu verwenden.

Die Nährlösung, in der nach Beijerinck der Luftstickstoff von den Cyanophyceen, den an das Licht gebundenen Oligonitrophilen, assimiliert wird, ist Leitungswasser + 0,02% K_2HPO_4. Er gibt zu, daß sowohl in Leitungswasser, wie auch in der Erde, mit der geimpft wurde, geringe, aber doch deutlich wägbare Mengen von N-Salzen vorhanden seien. Das von ihm benutzte Leitungswasser enthielt pro Liter 0,42 mg, die Erde 0,56% Stickstoff. Diese Mengen könnten aber nicht genügen.

Auffallend war mir in der Beyerinckschen Arbeit folgende Stelle: „Sie (die oligonitrophilen Mikroben) entwickeln sich in Nährlösungen ohne absichtlich zugefügte Stickstoffverbindungen, aber auch ohne daß Sorge getragen wird, um die letzten Spuren dieser Verbindungen zu entfernen." (Verz. 2, S. 562.) Irgend welche Angaben,

daß auch in absolut stickstofffreien Nährlösungen gearbeitet wurde, fehlen bei Beijerinck. Ist nun aber das Wachstum in Lösungen mit wenn auch sehr geringen Mengen von N-Salzen wirklich ein Beweis, daß Luftstickstoff gebunden wurde? Warum sollen die Algen, wenn sie wirklich diese Eigenschaften besitzen, nicht auch in Nährlösungen wachsen, denen sicher auch jede Spur von Stickstoffsalzen fehlt? Über diese Fragen konnte ich in der Arbeit von Beijerinck keine Antwort finden. Auch die im Jahre 1892 von Schloesing fils u. Laurent angestellten und von B. zitierten Versuche (Verz. 8) waren nicht sehr beweiskräftig. Ob man von Kulturen auf Sandboden sagen kann, daß ihnen jede Spur von Stickstoffsalzen sowie von N-bindenden Bakterien fehle, ist zum mindesten sehr fraglich. Beijerinck selbst gibt zu, daß diese Versuche nicht völlig überzeugend wären. Interessant ist die Arbeit für meine Untersuchungen nebenbei jedoch, weil in den auf Sandboden kultivierten Algenrasen neben Nostoc punctiforme und N. minutum auch Cylindrospermum majus auftrat.

Ich hielt es daher für angebracht, diese Versuche in der von Beijerinck angegebenen Form zu wiederholen, dann aber auch Kulturen herzustellen, denen auch jede Spur eines Stickstoffsalzes fehlte. Zeitlich fielen diese Untersuchungen zusammen mit den zu Beginn des vorigen Kapitels beschriebenen. Dadurch, daß diese beiden Fragen, die Ermittlung geeigneter Nährlösungen und die Assimilation des Stickstoffs, gleichzeitig erledigt wurden, kam ich dann schließlich zu ganz anderen Resultaten als Beijerinck. Befestigt wurden dieselben dann noch durch die Ergebnisse der Versuche über den Einfluß der Nährlösung auf die Sporenbildung.

Die sporentragenden Cyanophyceen der Nostocgruppe sollten es nach B. sein, die die Fähigkeit besitzen, den Luftstickstoff zu assimilieren. Ich zog also auch zu den Versuchen mit stickstofffreien Nährlösungen Nostoc spec. heran, wie es schon im vorigen Kapitel geschehen war.

In großen, mit eingeschliffenen Deckeln versehenen Museumsgläsern wurde folgende Serie angesetzt:

1. 2 Gläser mit Leitungswasser + 0,02% K_2HPO_4.
2. 2 „ „ doppelt destill. Wasser + Sp. $CaSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + 0,02% $MgSO_4$ + Sp. Fe.
3. 2 Gläser mit doppelt destill. Wasser + Sp. $CaCO_3$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe; nach dem Sterilisieren CO_2 eingeleitet.
4. Kontrolle: 0,05% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe.

Gleichzeitig wurde ein Parallelversuch in Erlenmeyerkölbchen angesetzt. Die ungefähr 20 cm hohen Museumsgläser wurden nur bis zur Hälfte mit Nährlösung gefüllt und nach dem Sterilisieren mit Fett

luftdicht verschlossen. Es wurde auch dafür Sorge getragen, daß das geimpfte Stück Algenrasen nicht untersank, sondern an der Oberfläche der Kultur schwamm, sich also in den günstigsten Bedingungen befand. Das Abschließen der Kulturen hatte den Zweck, eventuell von außen herantretende Ammoniumverbindungen, wie sie in der Laboratoriumsluft vorkommen können, auszuschalten. Die Luftsäule in dem verschlossenen Standglase war aber groß genug, um der Alge genügend Luftstickstoff sowie Kohlensäure zu bieten. Es zeigte sich jedoch, daß diese Vorsicht unnötig war.

Die Kulturgefäße wurden mit besonderer Sorgfalt gesäubert, wie dies in der Methodik beschrieben wurde. Bei Verwendung Merckscher Salze (mit „pro analysi" bezeichnet) konnte man dann annehmen, daß die Nährlösungen, in die man keine Stickstoffsalze hineingetan hatte, auch wirklich frei davon waren. Der Versuch wurde angesetzt mit C. licheniforme form. typ., er lief vom 29. X. 12 bis zum 5. XII. 12.

Geschlossenes Museumsglas: Leitungswasser + 0,02% K_2HPO_4	Ziemlich gutes Wachstum
Erlenmeyerkölbchen: Leitungswasser + 0,02% K_2HPO_4	Gutes Wachstum
Geschlossenes Museumsglas: Sp. $CaSO_4$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe	Nicht gewachsen, geimpfte Fäden bleich geworden
Erlenmeyerkölbchen: Sp. $CaSO_4$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe	Nicht gewachsen, geimpfte Fäden bleich geworden
Geschlossenes Museumsglas: Sp. $CaCO_3$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe. CO_2 eingeleitet	Nicht gewachsen, geimpfte Fäden bleich geworden
Erlenmeyerkölbchen: Sp. $CaCO_3$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe. CO_2 eingeleitet	Nicht gewachsen, geimpfte Fäden bleich geworden
Geschlossenes Museumsglas: 0,05% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe	Gutes Wachstum
Erlenmeyerkölbchen: 0,05% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe	Sehr gutes Wachstum

Aus diesem Versuch ergibt sich zunächst einmal, daß es nicht viel ausmacht, ob man die äußere Luft von der Kultur abschließt. In stickstofffreien Nährlösungen vermag die Alge auch dann nicht zu wachsen, wenn man ihr die eventuellen Ammoniumsalze der Luft zur Verfügung stellt. Das Wachstum in den übrigen geschlossenen Gefäßen war immer etwas schlechter, als in Erlenmeyerkolben, dies ist jedoch nicht weiter verwunderlich, da wohl der vollständige Abschluß der Luft nach einiger Zeit, jedenfalls nach Verbrauch der Kohlensäure,

das Wachstum zum Stillstand bringt. In Kalziumnitratlösung war die Alge am besten gewachsen, besser sogar als in Leitungswasser und Kaliumphosphat. Das spricht kaum für die Möglichkeit einer Stickstoff-Assimilation, eher kann man daraus schließen, daß im Leitungswasser Stickstoffspuren vorhanden sind, die genügen; denn sonst würde die Alge nicht in einer noch stärker N-haltigen Lösung besser wachsen.

Mit den übrigen Cylindrospermumarten, sowie mit Nostoc wurden die Versuche nun nur noch in Erlenmeyerkölbchen angesetzt. Die Ergebnisse sind in den Protokollen des vorigen Kapitels angegeben. In keinem Falle trat ein Wachstum auf, wenn nicht geringe Spuren eines N-Salzes zur Verfügung standen. Ein einziges Mal konnte ich in einer stickstofffreien Kultur bei C. muscicola deutliches Wachstum verzeichnen, da jedoch gleichzeitig ein Pilz darin wucherte, so nehme ich als sicher an, daß die Nährlösung durch irgend einen Zufall verunreinigt wurde, als beweiskräftig also nicht mehr angesehen werden konnte. Die Wiederholung brachte dann auch ein vollständiges Ausbleiben des Wachstums wie bei den übrigen Arten.

Zum Verständnis der Stickstofffrage muß hier noch einmal auf die Versuche zur Ermittlung geeigneter Nährlösungen eingegangen werden. Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die Algen nicht mit jedem N-Salz gleich gut wachsen, jede Art verhält sich sogar verschieden. Immer jedoch muß das Salz in einer ganz bestimmten Konzentration vorliegen, damit Wachstum eintritt. Für die meisten Salze ist diese Stufe bei 0,01%. Für Kalziumnitrat, die beste Stickstoffquelle, schwankt die für die Entwicklung geeignete Konzentration bei den verschiedenen Arten zwischen 0,1—0,01 Prozent.

In Kulturen, in denen noch weniger N-Salz vorhanden ist, als dem Optimum entspricht, ist das Wachstum bedeutend schwächer, um in gänzlich N-freien Lösungen völlig auszubleiben. Es sei ferner noch hervorgehoben, daß Nostoc sich nicht genau so verhält wie Cylindrospermum. Sein Stickstoffbedürfnis ist bedeutend höher; das Optimum liegt für alle Salze durchschnittlich bei 0,05 Prozent. Hiernach nehmen die Nostocarten eine Mittelstellung ein zwischen Cyanophyceen mit geringem Stickstoffbedürfnis und den Oscillarien, die bedeutend mehr Stickstoff brauchen.

Nach den angegebenen Resultaten halte ich nunmehr die Assimilation des Luftstickstoffs für ausgeschlossen. Folgende Beweise dafür möchte ich zum Schluß noch einmal zusammenstellen:

I. Es tritt kein Wachstum ein, wenn man aus einer stickstoffarmen Kultur, z. B. Leitungswasser und Kaliumphosphat, in eine vollständig stickstofffreie überimpft.

II. Die Menge der gebildeten Algensubstanz ist deutlich abhängig von der gebotenen Stickstoffmenge. Am deutlichsten tritt dieses Ver-

hältnis bei Kalziumnitrat hervor. So erhält man zum Beispiel in 0,1 Prozent sehr üppiges Wachstum, in 0,05 noch ziemlich gutes, in 0,01 nur sehr mäßiges Wachstum. In gänzlich N-freien Lösungen stirbt die Alge ab.

III. Die Art der Stickstoffquelle ist von größter Bedeutung; am besten, teilweise sogar ausschließlich, wachsen die Algen in Kalziumnitrat.

c. Der Einfluß der Nährlösung auf Sporenbildung und Keimung.

Bei der großen Anzahl von Kulturen, die im Laufe meiner Untersuchungen angesetzt und fast täglich beobachtet wurden, konnte ich immer bemerken, daß die Algen erst eine ziemliche Zeit lang vegetativ wuchsen und dann plötzlich anfingen, große Mengen von Sporen zu bilden. Besonders schön konnte man dies in Petrischalen mit Kieselgallerte beobachten, aber auch Flüssigkeitskulturen zeigten diese Tatsache deutlich. In Leitungswasser mit Kaliumphosphat stellte sich dieser Prozeß bedeutend früher ein, als in einer Nährlösung mit Kalziumnitrat. Es ließ sich daraus schon schließen, daß eine derartige vollständige Nährösung das vegetative Wachstum bedeutend fördert. Solche Kulturen wurden auch immer viel üppiger als die mit Leitungswasser angesetzten. Ich benutzte diese Tatsache ja auch, um die Keimung zu verursachen. Die Sporen keimten aus, wenn man auf die alte, halbeingetrocknete Kieselgallerteschicht die für jede Art charakteristische optimale Nährlösung brachte. Die Kultur mußte also vorher, als sie zur Sporenbildung schritt, an irgend einem Stoffe Mangel gelitten haben. Durch die frische Nährlösung wurde dann dieser Stoff wieder hinzugefügt, worauf die Alge in den vegetativen Zustand überging. Für die morphologische Untersuchung dieses Vorganges genügte es, zu wissen, welche Lösung für jede Art die zweckmäßigste ist. Vom physiologischen Standpunkt aus war es aber auch noch von Interesse, zu wissen, ob die gesamten, in der Flüssigkeit enthaltenen Salze nötig sind, oder ob auch schon eines derselben genügt, die Keimung zu verursachen. Man könnte daraus dann schließen, daß die Spore von diesem Stoff nicht genügend enthält, ja daß durch den Mangel an diesem Salz die Sporenbildung veranlaßt wurde.

Man konnte es nun durch das Abstufen der Konzentration des einen oder des anderen Salzes bewirken, daß dasselbe in einer Kultur im Minimum vorhanden war. Ich stellte nur wenige Versuche in dieser Richtung an, kann deshalb also auch nicht ein endgültiges Urteil darüber aussprechen, ob die obige Anschauung richtig ist, aber die wenigen Experimente, die ich anstellte, geben doch schon sehr interessante Resultate.

Nur zwei Arten zog ich zu diesen Untersuchungen heran, und zwar die beiden Formen von Cylindrospermum licheniforme. Ich hoffte dadurch gleichzeitig noch weitere Unterscheidungsmerkmale zu gewinnen, was auch tatsächlich gelang. Eine Serie setzte ich an, um den Stickstoff ins Minimum zu bringen. Kalziumnitrat wurde also in Konzentrationen von 0,1 bis 0,001 Prozent verwendet. Magnesiumsulfat und Kaliumphosphat mußten in genügender Menge gegeben werden. Um sicher zu gehen, wurden neben den Kulturen, die wie gewöhnlich 0,02 Prozent von diesen Salzen enthielten, auch solche angesetzt mit 0,05 Prozent. Es zeigte sich jedoch, daß in letzterem Falle das Wachstum schlechter war als bei der üblichen Konzentration. Kalziumsulfat mußte überall in geringer Menge zugefügt werden, um nicht gleichzeitig mit dem Stickstoff das Kalzium ins Minimum zu bringen.

Die zweite Serie wurde angesetzt, um den Phosphor ins Minimum zu bringen. Ich stufte also die Konzentrationen von Kaliumphosphat von 0,02 bis 0,0001 Prozent ab. Um nicht auch das Kalium ins Minimum zu bringen, wurde allen Kulturen gleichmäßig 0,01 Prozent Kaliumnitrat zugesetzt.

Von jeder beschriebenen Nährlösung wurden vier Erlenmeyerkolben angesetzt, und je zwei mit forma typica und forma Lemmermanni geimpft. Die Kulturen blieben über zwei Monate sich selbst überlassen, so daß der Sporenbildungsprozeß zum Schluß beendet war.

Protokoll zu Serie I. (Angesetzt am 7. VIII. 13.)

Nährlösungen	C. lich. f. typ. am 17. X. 13	C. lich. f. Lemm. am 17. X. 13
0,1% **Ca(NO$_3$)$_2$** + 0,05% $MgSO_4$ + 0,05% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	Sehr geringes Wachstum	Sehr geringes Wachstum.
0,1% **Ca(NO$_3$)$_2$** + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	Sehr gutes Wachstum, dicke Rasen von schwärzlichen Sporen gebildet (Optimum)	Sehr gutes Wachstum, dicke Sporenrasen, die Nährl. lebhaft violett (Optimum)
0,01% **Ca(NO$_3$)$_2$** + 0,05% $MgSO_4$ + 0,05% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	Ganz geringes Wachstum, Fäden bleich geworden	Geringes, aber deutliches Wachstum, Sporen gut gebildet, Flüssigkeit schwach violett.
0,01% **Ca(NO$_3$)$_2$** + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	Geringes Wachstum, jedoch sind **Sporen gebildet**	Gutes Wachstum, fast so wie im Optimum, dicke Sporenmassen, Flüssigkeit lebhaft violett.

Nährlösungen	C. lich. f. typ. am 17. X. 13	C. lich. f. Lemm. am 17. X. 13
0,005% $Ca(NO_3)_2$ + 0,05% $MgSO_4$ + 0,05% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	Sehr geringes Wachstum, Sporen nicht gebildet	Geringes Wachstum, aber Sporen gebildet, Flüss. schwach violett.
0,005% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	Sehr geringes Wachstum, Fäden noch grün, Sporen nicht gebildet	Gutes Wachstum, **Sporen gebildet,** Flüss. lebhaft violett.
0,001% $Ca(NO_3)_2$ + 0,05% $MgSO_4$ + 0,05% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	Nicht gewachsen	Nicht gewachsen.
0,001% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	Nur in einer Kultur ganz geringes Wachstum, Fäden bleich geworden	Nicht gewachsen.
N-frei. Sp. $CaSO_4$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe	Nicht gewachsen	Nicht gewachsen.

Ganz abgesehen von den mit diesem Versuch beabsichtigten Resultaten, gibt er eine weitere sehr gute Illustration zur Frage der Stickstoffassimilation. Ganz deutlich nimmt die Menge der gebildeten Algensubstanz ab mit der des gebotenen Nitrats. Die Konzentrationen 0,05% Magnesiumsulfat und Kaliumphosphat waren für forma typ. sichtlich zu hoch, während form. Lemmerm. sich nicht so empfindlich dagegen zeigte. Das Minimum von Kalziumnitrat, das nötig war, um die Sporenbildung noch zu ermöglichen, war für form. typ. 0,01 Prozent, für form. Lemm. dagegen 0,005 Prozent, ein weiterer Unterschied dieser beiden Formen. Die Sporenrasen aus den Minimumkulturen wurden abgeerntet und in sterilen Schalen getrocknet.

Protokoll zu Serie II. (Angesetzt am 7. VIII. 13.)

Nährlösungen	C. lich. f. typ. am 17. X. 13	C. lich. f. Lemm. am 17. X. 13
0,1% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + **0,02%** K_2HPO_4 + 0,01% KNO_3 + Sp. Fe	Gutes Wachstum, Sporen gebildet.	Nur mäßiges Wachstum, Sporen gebildet, Flüssigkeit violett.
0,1% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + **0,01%** K_2HPO_4 + 0,01% KNO_3 + Sp. Fe	Sehr gutes Wachstum, Sporen reichlich gebildet (Optimum)	Gutes Wachstum, Sporen gebildet, Flüssigkeit violett.

Nährlösungen	C. lich. f. typ. am 17. X. 13	C. lich. f. Lemm. am 17. X. 13
0,1% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + **0,005% K_2HPO_4** + 0,01% KNO_3 + Sp. Fe	Ebenso gut wie in 0,01% K_2HPO_4, in einer Kultur fast noch üppiger zu nennen.	Sehr gutes Wachstum, reichlich Sporen gebildet, Flüssigkeit violett. Optimum.
0,1% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + **0,001% K_2HPO_4** + 0,01% KNO_3 + Sp. Fe	Geringer als in 0,005% K_2HPO_4, aber noch gute Sporenbildg.	Gutes Wachstum, **Sporen gebildet,** Flüssigkeit violett.
0,1% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + **0,0001% K_2HPO_4** + 0,01% KNO_3 + Sp. Fe	Eine Kultur blieb aus, die andere zeigte jedoch **gute Sporenbildung.**	Nicht gewachsen.
P-frei, 0,1% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,01% KNO_3 + Sp. Fe	Nicht gewachsen.	Nicht gewachsen.

Beide Formen sind also auch in dem Verbrauch von Phosphor nicht ganz gleich. Das Minimum liegt, im Gegensatz zum Stickstoff, für C. lich. form. typ. tiefer als für form. Lemm. Auch von dieser Serie wurden die Sporenrasen abgeerntet und getrocknet. Nunmehr mußte der zweite Teil der Aufgabe erledigt werden, die Keimung dieser Sporen aus Kulturen, die teilweise an Stickstoff, teilweise an Phosphor Mangel gelitten hatten. Um die Sporen vorerst einmal von den Spuren von Salzen, die ihnen aus der vorhergehenden Nährlösung noch anhaften konnten, zu befreien, wurden sie 24 Stunden in doppelt destilliertes Wasser getan. Darauf wurden die Dauerzellen ausgesät, und zwar in folgende Nährlösungen:

C. lich. form. typ. aus **0,01% $Ca(NO_3)_2$** + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Spur $CaSO_4$ + Sp. Fe
1. in 0,1% $Ca(NO_3)_2$
2. in 0,1% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe
3. in doppelt destill. Wasser

C. lich. form. Lemm. aus **0,005% $Ca(NO_3)_2$** + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe
1. in 0,05% $Ca(NO_3)_2$
2. in 0,05% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe
3. in doppelt destill. Wasser

C. lich. form. typ. aus 0,1% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + **0,0001% K_2HPO_4** + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe
1. in 0,02% K_2HPO_4
2. in 0,1% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe
3. in doppelt destill. Wasser

C. lich. form. Lemm. aus 0,1% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + **0,001% K_2HPO_4** + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe
1. in 0,02% K_2HPO_4
2. in 0,05% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe
3. in doppelt destill. Wasser

Nostoc spec. aus 0,05% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + **0,001% K_2HPO_4** + Sp. Fe
1. in 0,02% K_2HPO_4
2. in 0,05% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe
3. in doppelt destill. Wasser.

Die Sporen von Nostoc konnten zum Vergleich mit angesetzt werden, da eine alte Kultur, die nicht zu dieser Versuchsreihe gehörte, vorhanden war. Die Kontrolle mit optimaler Nährlösung war nötig, um zu sehen, ob die Sporen überhaupt gesund und keimfähig waren. Die Kulturen in destilliertem Wasser waren nötig, um zu erfahren, ob nicht schon die Feuchtigkeit allein, ohne Salz, genügte, die Keimung zu verursachen. Der Versuch wurde nach ungefähr 3 Wochen unterbrochen, um durch mikroskopische Untersuchung feststellen zu können, ob die Sporen gekeimt waren. Die Serie, deren Protokoll hier folgt, wurde angesetzt am 20. X. 13 und wurde beendet am 13. XI. 13.

	in destilliertem Wasser	in der kompletten Nährlösung	in den Nährlösungen mit nur einem Salz
C. l. form. typ. aus **0,01 % $Ca(NO_3)_2$** + 0,02 % $MgSO_4$ + 0,02 % K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Fe	Nicht die geringsten Merkmale der Keimung zu sehen.	Gut ausgekeimt, Fäden von ziemlicher Größe schon vorhanden.	Nährl. 0,1 % $Ca(NO_3)_2$, sehr viele Sporen im Keimen begriffen.
C. l. form. Lemm. a. **0,005 % $Ca(NO_3)_2$** etc.	Nicht die geringsten Spuren der Keimung zu sehen.	Nur geringe Mengen v. Keimungen zu sehen. (Die Spore keimt überhaupt schlecht).	Nährl. 0,05 % Ca. $(NO_3)_2$ einige Sporen an einem Ende aufgehellt. (Zeichen für beginnende Keimung.)
C. l. form. typ. aus **0,0001 % K_2HPO_4** etc.	Nicht ausgekeimt.	Gut ausgekeimt, vegetative Fäden vorhanden.	Nährl. 0,02 % K_2HPO_4 die größte Anzahl der Sporen zum mindesten am Ende aufgehellt.
C. l. form. Lemm. a. **0,001 % K_2HPO_4** etc.	Nicht ausgekeimt.	Einige Sporen, wenn auch nur wenige, keimen aus.	Nährl. 0,02 % K_2HPO_4 bei einer geringen Zahl von Sporen ein Ansatz zur Keimung sichtbar.
Nostoc spec. aus **0,001 % K_2HPO_4** etc.	Gut ausgekeimt.	Gut ausgekeimt.	Gut ausgekeimt.

Es zeigte sich also aus dem Versuch folgendes: Nostoc keimt schon im destillierten Wasser aus, für die Beantwortung der gestellten Frage ist also das Resultat nichtssagend. Ganz eindeutig ist der Versuch geglückt bei C. lich. form. typ. Das frisch hinzukommende Salz, das vorher im Minimum vorhanden war, genügt tatsächlich, die Spore zum Keimen zu veranlassen. Dies gelang gleich gut für Phosphor wie für Stickstoff. Leider ist die zweite Art, C. lich. form. Lemm., ziemlich ungeeignet für die Untersuchung. Die Alge keimt nämlich aus mir unbekannten Gründen auch in kompletter Nährlösung nur schlecht aus. Ich möchte also den Resultaten dieser Serie ein Frage-

zeichen beigeben, obgleich Anzeichen dafür vorhanden sind, daß sie sich ebenso verhält wie form. typ. Es bleibt wohl weiteren Untersuchungen vorbehalten, Klarheit über die ganze Frage zu schaffen. Ich machte die geschilderten Versuche erst zum Schluß meiner Arbeit, so daß es mir nicht möglich war, eingehendere Experimente anzustellen. Ich konnte wenigstens soviel feststellen, daß Sporen gebildet werden in Lösungen, die nur sehr wenig Stickstoff, und solchen, die noch weniger Phosphor enthielten. Die Sporen aus derartigen Kulturen, gut getrocknet und gewaschen, keimten dann in Lösungen, die nur diesen einen, vorher im Minimum vorhandenen Stoff enthielten.

d. Einfluß der Trockenheit und extremer Temperaturen auf die Sporen.

Die derbe Haut der Spore von Cylindrospermum berechtigt schon von vornherein zu der Annahme, daß die Widerstandskraft dieser Gebilde gegen allerlei äußere Einflüsse, wie Eintrocknen, Hitze, Kälte ziemlich groß ist. So besaß ich eine Sammlung von Erdproben, die ein halbes Jahr lang im Laboratorium gestanden hatten. Die dort herrschende, wasserdampfarme Luft hatte bewirkt, daß die Erde ein vollständig trocknes Pulver geworden war. Benutzte man dieses Material zu Anhäufungsversuchen, so zeigte die sich üppig entwickelnde Cyanophyceenflora, daß die in der Erde befindlichen Sporen ihre Keimfähigkeit nicht verloren hatten. Ebenfalls wurden gute Kulturen aus Proben gezogen, die bei strenger Kälte aus dem vereisten Boden gebrochen waren.

Ich stellte mir nun folgende Fragen, um sichere Auskunft über die Widerstandsfähigkeit der Dauerzelle zu erhalten.

1. Hält die Spore das Austrocknen aus?
2. Wie verhält sich die vegetative Zelle gegen das Austrocknen?
3. Wie verhält sich Spore, sowie vegetative Zelle gegen Temperaturen unter dem Gefrierpunkt?
4. Wie verhalten sich beide gegen höhere Temperaturen?

Ich benutzte C. licheniforme form. typ. sowie C. muscicola, die mir als gut wachsende und leicht auskeimende Arten bekannt waren. Zum Vergleich zog ich noch Nostoc spec. als Vertreter einer Gruppe mit einfacher gebauten Sporen, sowie Oscillaria brevis, als Vertreter der sporenlosen Cyanophyceen, heran.

Es wurde zuerst exakt nachgeprüft, ob die Dauerzellen das Eintrocknen aushalten, obwohl diese Tatsache ja von vornherein als feststehend angenommen werden konnte. Gleichzeitig untersuchte ich die Resistenz der vegetativen Zelle. Auch diese Frage stand, wenigstens für Cylindrospermum, schon vorher ziemlich fest. Wenn man nämlich eine ausgetrocknete Kieselgallertekultur mikroskopisch untersuchte, so

konnte man immer wahrnehmen, daß die vegetativen Algenfäden abgestorben waren. Sie waren meist in kurze Bruchstücke zerfallen und hatten ihre Farbe verloren.

Als Material für den Eintrocknungsversuch fanden die alten Kulturen auf Tonplatten, die dicke Polster von Sporen enthielten, Verwendung. Die Nährlösung wurde abgegossen und die Deckelschalen mit etwas gelüftetem Deckel aufgestellt, so daß die den Rasen noch anhaftende Flüssigkeit verdunsten konnte, ohne ein Eindringen von Staub befürchten zu müssen. Nach vierzehn Tagen waren die Kulturen gewöhnlich ausgetrocknet, sie wurden nunmehr noch vier Tage in den Exsikkator gestellt. Diese Methode wurde immer benutzt, wenn für einen der folgenden Versuche trockenes Sporenmaterial benötigt wurde. Die Gefäße wurden dann schließlich im Impfkasten geöffnet, und die Tonplatte mit allen Vorsichtsmaßregeln gegen Pilzinfektion zerkleinert, um gute Impfstückchen zu erhalten. Von Oscillaria brevis, sowie Nostoc spec. lagen ebenfalls solche Kulturen vor. Rein vegetatives Material wurde, da es genau untersucht werden mußte, ob auch nicht eine Spore dazwischen war, auf Kieselgallerte gezogen. Der Rasen ließ sich dann ebenfalls trocknen, wobei das Substrat in viele kleine Schollen zerfiel, die leicht mit der Pinzette in eine neue Nährlösung übertragen werden konnten. Als Kulturflüssigkeit wurde immer die für jede Art charakteristische optimale Lösung mit Kalziumnitrat benutzt.

Es folgt das Protokoll zu diesem Versuch. Die Zeichen bedeuten: 0 = nicht gewachsen, + = gewachsen, + ? = mäßig gewachsen.

Angesetzt am 24. I. 13	Sporen getrocknet, am 27. II. 13	Vegetative Fäden getrocknet, am 27. II. 13
Cylindrospermum licheniforme form. typ.	+	0
Cylindrospermum muscicola .	+	0
Nostoc spec.	+	0
Oscillaria brevis.	—	+

Aus diesem einfachen Versuch geht mit Sicherheit hervor, daß die zarten vegetativen Fäden sporenbildender Cyanophyceen das Eintrocknen nicht vertragen. Um ganz sicher zu gehen, wurden die Kulturen, die kein Wachstum gezeigt hatten, noch einmal angesetzt; das Resultat blieb das gleiche. Die der Sporen entbehrenden Oscillarien hatten das Austrocknen gut überstanden.

Die folgenden Untersuchungen erstrecken sich nun auf die Widerstandsfähigkeit der Algen bei Temperaturen unter dem Gefrierpunkt.

Die untersuchten Arten waren dieselben, nur wurde neben trockenem Material auch feuchtes, und zwar sowohl Sporen, als auch rein vegetative Fäden verwendet. Zur Erlangung tiefer Temperaturen kamen verschiedene Methoden zur Benutzung. Zuerst wurde die natürliche Kälte des Winters verwendet. Um tiefere Temperaturen zu erreichen, stellte ich dann verschiedene Kältemischungen her (nach Landold-Börnstein, Verz. 6). Möglichst lange mußte die Temperatur konstant gehalten werden, die Gefäße mit den temperaturerniedrigenden Mischungen wurden daher mit guten Wärmeisolationsmitteln umgeben. Am besten eignete sich dazu wollene Watte. Der Topf mit der Kältemischung wurde dick damit umwickelt und dann in einen Pappkasten, dessen doppelte Wände mit Sägespänen ausgefüllt waren, gestellt. Durch diese Hilfsmittel gelang es, die Temperatur ziemlich lange auf einem tiefen Niveau zu halten. Als Kältequelle fand erstens ein Gemisch von gleichen Teilen Eis und Kochsalz Anwendung. In diesem standen Röhrchen aus Messing, die das Algenmaterial sowie ein Thermometer enthielten. Der erste Versuch dauerte vom 11. II. 13 mittags 12 Uhr bis abends 10 Uhr. Eis und Kochsalz wurden in dieser Zeit einige Male erneuert. Folgende Temperaturablesungen wurden gemacht:

$12^h\ 0^m$	-21^0	$5^h\ 45^m$	$-18{,}5^0$
$2^h\ 18^m$	-18^0	$7^h\ 0^m$	-18^0
$4^h\ 15^m$	-16^0	$8^h\ 30^m$	-15^0
$5^h\ 15^m$	-17^0	$10^h\ 0^m$	-16^0

Die Algen wurden dann in der Mischung stehen gelassen, Eis und Kochsalz aber nicht mehr hinzugefügt. Am andern Morgen 10^h, als der Versuch abgebrochen wurde, war die Temperatur noch bei -4^0. Die Algen waren also 10 Stunden lang bei einer Temperatur, die zwischen -15^0 und -21^0 schwankte, die übrigen 12 Stunden stieg die Temperatur dann langsam auf -4^0.

Anschließend setzte ich noch einen zweiten Versuch an mit noch tieferen Kältegraden. Es wurde dazu eine Mischung von fester Kohlensäure und Alkohol benutzt. Die Ablesungen am Thermometer waren folgende:

$12^h\ 0^m$	-70^0	$1^h\ 20^m$	-71^0
$12^h\ 6^m$	-73^0	$1^h\ 30^m$	-68^0
$12^h\ 20^m$	-72^0	$1^h\ 55^m$	-73^0
$12^h\ 30^m$	-60^0	$2^h\ 45^m$	-71^0
$12^h\ 35^m$	-72^0	$3^h\ 0^m$	-69^0
$12^h\ 40^m$	-75^0	$3^h\ 10^m$	$-69{,}5^0$
$12^h\ 45^m$	-78^0	$3^h\ 20^m$	-68^0
$12^h\ 50^m$	-76^0	$3^h\ 30^m$	-67^0
$1^h\ 0^m$	-75^0	$3^h\ 40^m$	-65^0
$1^h\ 10^m$	-73^0	$3^h\ 50^m$	-60^0

3^h 55^m wurde der Versuch dann bei -60^0 abgeschlossen. Die Algen waren also fast 4 Stunden einer Temperatur von mindestens 60^0 Kälte unterworfen.

Ferner wurden Kulturen vier Tage lang ins Freie an ein Nordfenster gestellt, und zwar auch vegetative Zellen ohne Sporen. Das Minimum- und Maximumthermometer zeigte in dieser Zeit als Grenzpunkte -2^0 und -8^0 an.

Die Protokolle dieser drei Serien sollen hier gemeinsam angegeben werden.

Ungefähr 3 Wochen in Kalziumnitratlösung kultiviert	4 Tage im Freien -2^0 bis -8^0	-16^0 (u. tiefer)	-60^0 (u. tiefer)
C. lich. f. typ. trockene Sporen .	+	+	+
C. lich. f. typ. feuchte Sporen .	+	+	+
C. lich. f. typ. vegetat. Fäden .	0		
C. muscicola trockene Sporen .	+	+	+
C. muscicola feuchte Sporen . .	+	+	+ ?
C. muscicola vegetat. Fäden . .	0		
Nostoc trockene Sporen . . .	+	+	+
Nostoc feuchte Sporen . . .	+	+	+ ?
Nostoc vegetat. Fäden . . .	0		
Oscill. brevis trocken	+	+	+
Oscill. brevis feucht	+	+	+ ?

Man kann aus diesen Resultaten entnehmen, daß die trockenen Sporen ziemlich tiefe Temperaturen gut vertragen, von C. lich. form. typ., einer Art mit sehr festen, derben Dauerzellen, sind auch die feuchten von derselben Widerstandskraft. Für C. muscicola und Nostoc, mit weniger von vegetativen Zellen abweichenden Sporen ausgestattet, sowie für die sporenlose Oscillaria brevis ist bei -60^0 schon ein Unterschied zwischen trockenem und feuchtem Material wahrnehmbar. Das feuchte Material war im Wachstum weit hinter dem trockenen zurück, muß also durch den Eingriff geschwächt worden sein. Die vegetativen Zellen der sporentragenden Arten gingen schon bei -2^0 bis -8^0 ein.

Die ganze Versuchsreihe wurde noch einmal wiederholt. Eine kleine Abänderung war bei der Anordnung getroffen. Die Wärmeisolation war inzwischen noch so weit verbessert worden, daß eine einmalige Füllung mit fester Kohlensäure und Alkohol genügte, um eine konstante Temperatur von ungefähr 80^0 unter Null sechs Stunden lang zu erhalten. Das hatte zur Folge, daß bei Oscillaria brevis

(feucht) das Wachstum ganz ausblieb, während C. muscicola (feucht) und Nostoc (feucht) wieder sehr mäßiges Wachstum zeigten. Sonst stimmen die Resultate mit der Tabelle überein.

Die letzte Aufgabe bestand nun darin, die Frage zu beantworten, wie sich die Algen gegen höhere Temperaturen verhielten. Es war von vornherein ziemlich ausgeschlossen, daß z. B. 100° eine so lange Zeit hindurch ausgehalten würde, wie die Kältegrade. Es war daher dafür Sorge zu tragen, daß die Sporen im Innern der Messingröhrchen die Temperatur auch wirklich in der kurzen Zeit, die das Experiment dauerte, annahmen. Die Algen mußten also mit der Metallwand direkt in Berührung kommen. Es wurden deshalb auch nicht mehr Tonscherben mit den anhaftenden Sporen benutzt, sondern nur noch Algen, die von dem Substrat, auf dem sie gewachsen waren, abgeschabt waren. Die vollständig sterilisierten Röhrchen wurden an einem Drahtgestell in einem Wasserbad so aufgestellt, daß die Verschlußstopfen über der Oberfläche waren, also in die Röhren keine Feuchtigkeit eindringen konnte. Sie wurden vorgewärmt, bis das in einem Röhrchen angebrachte Thermometer die gewünschte Temperatur zeigte. Dann wurden die Gefäße schnell geöffnet und die Algen hineingetan. Die Temperatur sank dabei, nach einiger Übung, höchstens um einen Grad, stieg aber schon nach einer Minute wieder auf die gewünschte Höhe.

Wiederum zog ich, neben C. lich. form. typ. und C. muscicola, auch Nostoc spec. und Oscillaria brevis heran, und zwar als feuchtes und trockenes Material. Von den sporentragenden Arten wurden auch feuchte vegetative Fäden untersucht. Die folgenden Protokolle sind so zu verstehen: In der ersten Rubrik links stehen die Angaben über Dauer und Art des Versuchs. Die folgenden Abteilungen zeigen das Wachstum der behandelten Algen in der für jede Art bekannten optimalen Nährlösung mit Kalziumnitrat an. Die ausgesäeten Sporen etc. wurden erst nach ungefähr sechs Wochen untersucht, wenn sie also überhaupt noch am Leben waren, so mußte in dieser Zeit Wachstum eingetreten sein.

Serie I. Trockene Sporen.

	C. lich. f. typ.	C. muscicola	Oscill. (sporenlos)	Nostoc
10 Minuten auf 80°	+	+	+	+
20 Minuten auf 80°	+	+	+	+
10 Minuten auf 85°	+	+	+	+
20 Minuten auf 85°	+	+	+	+

	C. lich. f. typ.	C. muscicola	Oscill. (sporenlos)	Nostoc
10 Minuten auf 90°	+	+	+	+
20 Minuten auf 90°	+	+	+	+
10 Minuten auf 95°	+	+	+	+
20 Minuten auf 95°	0	0	0	0
2 Minuten auf 100°	+	+	+	+
5 Minuten auf 100°	0	0	0	0

Im ausgetrockneten Zustande verhalten sich also die verschiedenen Arten ganz gleich. Ein ganz kurzer Aufenthalt in 100° ließ die Sporen sowie die vegetativen Oscillariafäden noch am Leben, aber schon fünf Minuten in der Temperatur des kochenden Wassers gelassen, starben sie sämtlich ab. Auch eine zwanzig Minuten hindurch einwirkende Hitze von 95° war schon imstande, alles Leben zu vernichten.

Serie II. Feuchte Sporen.

	C. lich. f. typ.	C. muscicola	Oscill. brev. sporenlos	Nostoc spec.
10 Minuten auf 60°	+	+	+	+
20 Minuten auf 60°	+	+	+	+
10 Minuten auf 70°	+	+	0	+
20 Minuten auf 70°	+	+	0	+
10 Minuten auf 80°	+	+	0	0 (+ ?) eine Kultur wenig gew.
20 Minuten auf 80°	+	+	0	0
10 Minuten auf 90°	0	+	0	0
20 Minuten auf 90°	0	0	0	0
10 Minuten auf 95°	0	0	0	0
20 Minuten auf 95°	0	0	0	0
2 Minuten auf 100°	0	0	0	0

Deutlich erkennbar ist aus der Tabelle, daß die mit der festesten Membran ausgestatteten Cylindrospermumarten am widerstandfähigsten sind, Nostoc unterliegt der Hitze schon früher, und am empfindlichsten ist die gänzlich der Dauerzelle entbehrende Oscillaria brevis. Es bleiben nun noch die vegetativen Zellen der drei mit Sporen versehenen Arten zu untersuchen. Natürlich konnte nur ihre Resistenz im feuchten Zustand gefunden werden. Denn, wie gezeigt, gingen sie schon beim Eintrocknen zugrunde. Ich fing mit sehr niedrigen Temperaturerhöhungen an.

Serie III. Vegetative Zellen.

	C. lich. f. typ.	C. muscicola	Nostoc spec.
10 Minuten auf 35° . .	+	+	+
20 Minuten auf 35° . .	+	+	+
10 Minuten auf 40° . .	+	+	+
20 Minuten auf 40° . .	0	0	0
10 Minuten auf 50° . .	0	0	0
20 Minuten auf 50° . .	0	0	0
10 Minuten auf 60° . .	0	0	0
20 Minuten auf 60° . .	0	0	0

Wie nach den vorausgehenden Versuchen zu erwarten war, hatte die vegetative Zelle der untersuchten Arten nur eine sehr geringe Resistenz gegen höhere Temperaturen. Sie braucht dieselbe ja nicht, denn die desto widerstandsfähigere Spore hilft der Pflanze über ungünstige Einflüsse hinweg.

Man kann wohl annehmen, daß die übrigen Cylindrospermum-Arten sich darin nicht anders verhalten, denn der Bau ihrer Spore ist im großen und ganzen derselbe.

Zum Schluß sei die Antwort auf die anfangs gestellten Fragen hier nochmals zusammengestellt.

1. Die Sporen, sowie Zellen von sporenlosen Arten halten das Eintrocknen gut aus.

2. Die vegetativen Zellen der sporentragenden Arten gehen beim Eintrocknen zugrunde.

3. Die Sporen, sowie die Zellen von sporenlosen Arten halten sehr tiefe Temperaturen aus. Die vegetativen Zellen der sporentragenden Arten erliegen schon der Winterkälte.

4. Die Sporen halten, hauptsächlich eingetrocknet, ziemlich hohe Temperaturen aus. Eingetrocknet ist auch Oscillaria sehr resistent. Feucht macht sich eine absteigende Reihe bemerkbar, von Cylindrospermum über Nostoc zu Oscillaria. Noch empfindlicher als die sporenlose Form sind die vegetativen Fäden der sporentragenden.

V. Ökologisches.

Wir haben in den vorhergehenden Kapiteln eine ganze Reihe von Eigenschaften der Gattung Cylindrospermum kennen gelernt. Es fragt sich nun, welche Vorteile erwachsen der Alge draußen, an natürlichen Standorten, aus diesen Eigentümlichkeiten. Man kann wohl annehmen, daß alle untersuchten Eigenschaften dazu beitragen, der Pflanze den Kampf ums Dasein zu erleichtern. Hauptsächlich wohl den Kampf gegen die austrocknungsfähigen, ebenfalls sporentragenden Nostocarten. Ein Nostoc wird jedoch, wenn der Boden nur ganz oberflächlich angefeuchtet wird, sofort auskeimen. (Angestellte Versuche ergaben, daß schon nach 24stündigem Aufenthalt in Feuchtigkeit die Keimung einsetzt.) Folgt nun aber sofort auf solche Anfeuchtung des Bodens eine plötzliche Austrocknung, wie sie durch starke Sonnenbestrahlung des nackten Bodens leicht eintreten kann, so ist Nostoc immer dem Untergang geweiht, denn die jungen Fäden haben inzwischen noch keine neuen Sporen gebildet. Cylindrospermum dagegen wird immer erst auskeimen, wenn eine längere Feuchtigkeitsperiode, verbunden mit der Anwesenheit der richtigen Nährstoffe, genügende Garantie für die Bildung neuer Sporen bietet. Nostoc hilft sich über diesen Nachteil dadurch hinweg, daß es eine unendlich größere Menge von Sporen bildet, als Cylindrospermum. Bei Nostoc zerfällt der ganze Faden in Sporen, man kann wohl sagen, fast jede Zelle wird zu einer Dauerzelle umgebildet. Bei Cylindrospermum hingegen bildet jeder Faden nur eine, bei einigen Arten höchstens eine kurze Kette von drei bis vier Sporen. Diese relativ geringe Anzahl genügt bei ihrer großen Dauerhaftigkeit vollkommen.

Nostoc wächst rascher, herrscht daher auch in der Bodenflora vor, doch findet sich auch Cylindrospermum ziemlich häufig. Beide Gattungen werden ihre hauptsächliche Verbreitung durch den Wind finden. Einen Vorteil besitzt letzteres noch vor Nostoc; sein deutlich geringeres Bedürfnis von Stickstoffsalzen. Solche Stellen, wie der öfters erwähnte Garten in Naumburg, müssen sehr arm an diesen Salzen sein, sonst würde die Gattung Cylindrospermum dort nicht die Nostocarten fast vollständig verdrängt haben. Interessant ist übrigens, daß in diesem Garten früher in jeder Regenperiode dicke Polster von Nostoc, die sogenannten Sternschnuppen, auftraten. Natürlich darf

man aus den Kulturversuchen in Flüssigkeit nicht schließen, daß Cylindrospermum nur an solchen Stellen wachsen kann, wo sehr geringe Mengen von Stickstoff im Boden vorhanden sind. Die Erde ist ja auch, wie Gips, Ton und Kieselgallerte, ein halbfeuchtes Substrat und kann, wie oben (S. 318) gezeigt, schädliche Einflüsse abschwächen. Ein höherer Gehalt an Stickstoff wird also das Wachstum nicht verhindern. Es wird dann aber immer der Konkurrenzkampf mit Nostoc beginnen, denn erst der höhere Gehalt an Stickstoffsalzen ermöglicht es dieser Gattung, sich üppig zu vermehren.

Die Resistenz der Spore, wenigstens der trockenen Spore, gegen hohe Temperaturen wird in der Natur auch nicht so selten in Anspruch genommen werden, wie man schlechthin annehmen könnte. Wenn der nackte, dunkle Boden, auf dem die Sporen liegen, im heißen Sommer direkt von der Sonne bestrahlt wird, so nimmt er selbst bei uns recht hohe Temperaturen an. Nach Warming (Verz. 13) sind 50 Grad auf dunklem Boden nichts seltenes. Schimper gibt, freilich für die Tropen, sogar als stärkste Erwärmung 84 Grad an. (Verz. 10.) Derartige Einwirkungen kann der Organismus mit Hilfe seiner gut ausgebildeten Sporen dann leicht überwinden. Die kalte Jahreszeit wird ebenfalls nur von den Dauerzellen überlebt, schon einige Tage Nachtfrost genügen, die zarten, vegetativen Fäden zu zerstören. Die sporenlosen Oscillarien sind so an derartige Extreme angepaßt, daß sie nicht darunter zu leiden haben.

Zusammenfassung.

1. Durch Anhäufung nach Beijerinck in Wasser und wenig trockener Erde ist es leicht möglich, eine große Anzahl von sporentragenden Cyanophyceen zu gewinnen. Sehr häufig treten dabei Vertreter der Gattung Cylindrospermum auf.

2. Es gelang durch Überimpfen auf Kieselgallerte, die einzelnen Arten voneinander zu trennen. Hingegen schlugen die Versuche, absolute Reinkulturen zu gewinnen, fehl.

3. Unter den gefundenen Arten befanden sich zwei, die als Cylindrospermum licheniforme angesprochen werden mußten. Da sie jedoch morphologisch wie physiologisch Verschiedenheiten aufwiesen, so wurde unterschieden zwischen einer forma typica und einer forma Lemmermanni.

4. Der Verlauf der Keimung ist für jede Art bezeichnend und von der der anderen, wenn auch nur wenig, verschieden.

5. Die geeignetste Nährlösung ist für die einzelnen Arten fast gleich. Immer ist Kalziumnitrat die beste Stickstoffquelle.

6. Der Stickstoff der Luft wird von dieser Organismengruppe nicht assimiliert. Sie sind an eine geringe Menge von Stickstoffsalz gebunden.

7. Die Sporenbildung wird veranlaßt durch Erschöpfung der Lösung. Die Keimung durch Zufuhr frischer Nährstoffe.

8. Sporen werden noch gebildet bei sehr geringen Mengen von Stickstoff, ebenso von Phosphor. Das Auskeimen wird dann veranlaßt durch den Stoff, der vorher im Minimum war.

9. Die Dauerzellen sind gegen Hitze und Kälte sehr resistent, ebenso gegen das Eintrocknen. Die vegetativen Zellen der sporentragenden Arten gehen schon bei geringen Hitze- und Kältegraden zugrunde.

Literaturverzeichnis.

1. Behrens, Tabellen zum Gebrauch bei mikroskopischen Arbeiten. Braunschweig 1898.
2. M. W. Beijerinck, Über oligonitrophile Mikroben. Bakteriol. Zentralblatt, II. Bd., 7. Jahrg., 1901.
3. Hegler, Untersuchungen über die Organisation der Phycochromaceenzelle. Pringsheims Jahrbücher, Bd. 36, Jahrg. 1891.
4. Kohl, Über die Organisation und Physiologie der Cyanophyceenzelle. Jena 1903.
5. Küster, Anleitung zur Kultur der Mikroorganismen. Leipzig u. Berlin 1907.
6. Landold-Börnstein, Physikalisch-chemische Tabellen. Berlin 1912.
7. Lemmermann, Kryptogamenflora der Mark Brandenburg, Algen I. Leipzig 1910.
8. E. G. Pringsheim, Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen. Kultur von Algen in Agar. Beitr. z. Biol. d. Pfl., Bd. XI, Jahrg. 1912.
9. E. G. Pringsheim, Kulturvers. m. chlorophyllf. Mikroorg. Zur Physiologie der Schizophyceen. Beitr. z. Biol. d. Pfl., Bd. XII, 1913.
10. Schimper, Pflanzengeographie auf physiologischer Grundlage. Jena 1913.
11. Schloesing fils u. Laurent, Fixation de l'azote libre par les plantes. Ann. d. l'inst. Pasteur, T. VI, 1892.
12. Stockhausen, Ökologie, „Anhäufungen nach Beijerinck". Berlin 1907.
13. Warming, Lehrbuch der ökologischen Pflanzengeographie. Berlin 1902.
14. Wester, Studien über das Chitin. Archiv für Pharmazie, Bd. 247, Jahrg. 1909.

Erklärung der Tafeln.

(1 μ des Objekts gleich 0,56 mm auf der Tafel.)

Tafel V.

1. Cylindrospermum licheniforme forma typica.
2. Cylindrospermum licheniforme forma Lemmermanni.
3. Cylindrospermum muscicola.
4. Cylindrospermum minutissimum.
5. Cylindrospermum catenatum.
6. Cylindrospermum majus.

Tafel VI.

1. Keimung von C. minutissimum:
   - 1a. Erste Querwandbildung.
   - 1b. Die Haut reißt an der Seite auf.
   - 1c., 1d. Der Keimling wächst aus der Spore heraus.
   - 1e., 1f. Die Dicke des Fadens wird reduziert.
2. Keimung von C. licheniforme form. typ.:
   - 2a. Die Spore hellt sich an einem Ende auf.
   - 2b., 2c. Der Inhalt wächst schlauchförmig heraus.
   - 2d. Mehrere Querwände werden gleichzeitig gebildet.
   - 2e. Die Dicke des Fadens wird reduziert.
3. Keimung von C. majus:
   - 3a. Die Spore hellt sich an einem Ende auf.
   - 3b. Der Keimling zertrümmert die Sporenwand.
   - 3c., 3d. Die Dicke des Fadens wird reduziert.
4. Keimung von C. muscicola:
   - 4a., 4b. Der Inhalt der Spore kriecht heraus.
   - 4c. Der Sporeninhalt wächst ein Stück ohne Querwandbildung.
   - 4d. Mehrere Querwände werden gleichzeitig gebildet.
   - 4e. Die Dicke des Fadens wird reduziert.
   - 4f. Ein älterer Faden, der die Hülle verlassen hat.
   - 4g. Ein sehr junger Faden, der schon die Hülle verlassen hat.

5. Keimung von C. catenatum:

5a. } Der Inhalt der Spore durchbricht die Wand.
5b. }

5c. Er hat die Hülle ohne Querwandbildung schon verlassen.

5d. Mehrere Querwände werden gleichzeitig gebildet.

5e. Die Dicke des Fadens wird reduziert.

6. Keimung von C. licheniforme form. Lemm.:

6a. Die Spore hellt sich an einem Ende auf.

6b. Der Inhalt wächst schlauchförmig heraus.

6c. Mehrere Querwände werden gleichzeitig gebildet.

6d. Die Dicke des Fadens wird reduziert.

4. Sero-diagnostische Untersuchungen über die Verwandtschaften innerhalb der Pflanzengruppe der Parietales.

Von **Carl Mez** und **Alfred Preuß.**

Die Methodik der Serum-Untersuchungen zur Feststellung pflanzlicher Verwandtschaften hat seit der Publikation der letzten Königsberger Arbeit[1]) insofern eine weitere Ausbildung erhalten, als durch Anwendung von 0,1% Natronlauge als Lösungsmittel für das Samen-Eiweiß mehrfach Extrakte gewonnen werden konnten, die mit psysiologischer Kochsalzlösung nicht erzielbar gewesen waren. Daß diese mit einem andern Lösungsmittel hergestellten Auszüge an die Stelle der Kochsalzlösungs-Extrakte treten konnten, mußte erst durch vergleichende Untersuchungen bewiesen werden. Denn es ist an sich wahrscheinlich, daß die Natronlauge als Extraktionsmittel andere und anders geartete Eiweißstoffe zur Lösung bringt als die Kochsalzlösung; ob diese Eiweißstoffe gleichfalls verwandtschafts-spezifisch sind und ferner ob sie mit den durch Kochsalzlösung extrahierten Eiweißstoffen verwandtschafts-spezifische Reaktionen ergeben, mußte zunächst untersucht werden.

Die nötigen Versuchsreihen wurden mit Hypericum- und Reseda-Samen wie folgt durchgeführt:

Die Gewinnung eines Immunserums mittels Natronlauge-Extrakt als Antigen hatte keine Schwierigkeit; die Immunisation erfolgte prompt.

Das gewonnene Immunserum reagierte mit einem Natronlauge-Extrakt des als Antigen benützten Samens und mit ebensolchen Auszügen verwandter Samen nach vorheriger Neutralisation der Extrakte mit Essigsäure in typischer Weise. Die Neutralisation erwies sich als absolut notwendig; eine schwache Azidität verstärkte die typischen Reaktionen.

Besonders beachtenswert aber und zugleich theoretisch interessant ist, daß die mit Natronlauge-Extrakten gewonnenen Immunsera auch mit Kochsalzlösungs-Extrakten typisch reagierten und ebenso die Kochsalzlösungs-Immunsera mit Natronlauge-Extrakten. Dies wurde be-

[1]) Vgl. Mez und Lange in Cohns Beitr. 1914, 218.

sonders durch Parallelversuche mit Reseda nachgewiesen. Es zeigte sich demnach, daß bei derselben Spezies selbst in verschiedenen, durch verschiedene Mittel lösbaren Eiweis-Arten die gleichen art-konstanten (und deshalb für die Verwandtschafts-Reaktionen bestimmenden) Molekülgruppen vorhanden sind. Dies stimmt mit der von anderer Seite gemachten Feststellung überein, daß (soweit bisher untersucht nur mit Ausnahme des Sperma der Tiere und der Glaskörper der Tieraugen) alle Eiweißstoffe desselben Organismus die gleiche spezifische Reaktion ergaben, demnach die gleichen art-konstanten Molekülgruppen enthalten müssen.

Im übrigen waren die systematischen Ergebnisse der Untersuchung über die Parietales die folgenden:

Der Anschluß der Parietales an den Ranales-Stamm wurde in der Nähe der Berberidaceae bestätigt; abweichend von den Untersuchungen Langes wurde er den Berberidaceae näher als den Lardizabalaceae gefunden. Diese Differenz wird durch Nachprüfung aufzuklären sein.

Weitaus am nächsten stehen nach dem serologischen Verhalten den Berberidaceae von allen untersuchten Parietales-Familien die Resedaceae; da diese Familie unter den Ranales auch mit den Ranunculaceae und Magnoliaceae stark, mit den Calycanthaceae, Anonaceae und Aristolochiaceae schwächer reagierte, ist sie unter allen untersuchten Parietales-Formenkreisen als der phylogenetisch tiefststehende zu betrachten. Die Ochnaceae, die vielfach als den Ranales näher verwandt angesehen werden, erhalten eine wesentlich weiter entfernte Stellung.

Über die allernächste Verwandtschaft der Resedaceae mit den Capparidaceae kann nicht mehr gezweifelt werden. Von letzteren leiten sich die Cruciferae direkt ab. Auch die Moringaceae gehören zu dem Capparidaceae-Ast des natürlichen Systems; ihre frühere Annäherung an die Leguminosae hat sich als irrig erwiesen.

Die Papaveraceae sind den übrigen Rhoeadales, wie dies bereits früher durch die Königsberger Arbeiten festgestellt wurde, durch weite Entwickelung vorausgeeilt und bieten serologisch nur schwache Anknüpfung, die aber genügt, sie mit Sicherheit dem bei den Resedaceae entspringenden Rhoeadales-Ast (Moringaceae, Capparidaceae, Cruciferae, Papaveraceae) anzufügen. Daß die Papaveraceae hier allein ihre richtige Stellung haben, geht nicht nur aus ihrer Morphologie, sondern auch serologisch aus der Tatsache hervor, daß für sie keinerlei andere Anknüpfung im System durch die Serum-Reaktionen gefunden werden konnte.

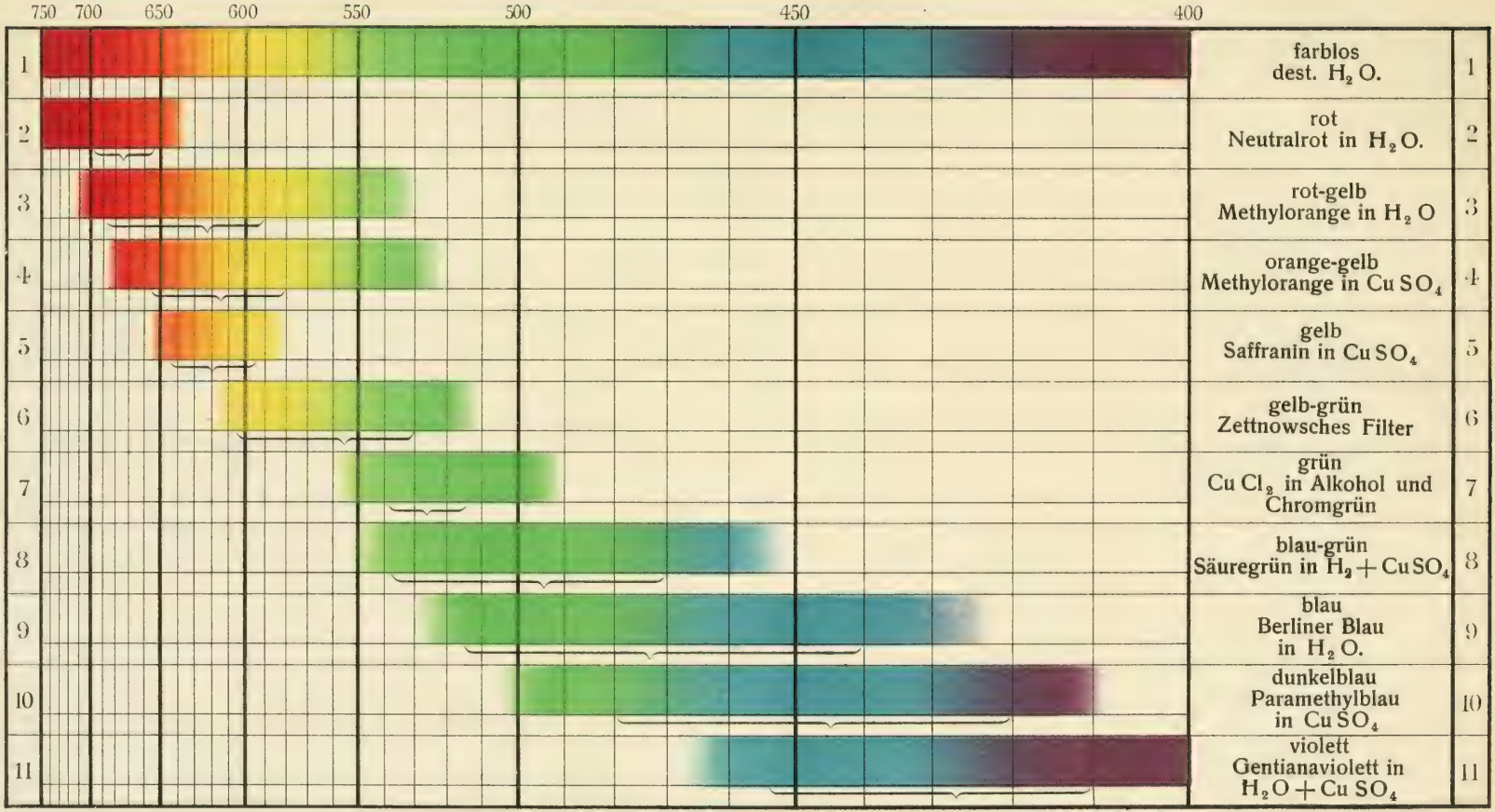
Als neue Erkenntnis auf serologisch-systematischem Gebiet ist die Anreihung der Malvaceae und damit der gesamten Columniferae an

den Parietales-Ast (aus dessen Basis über den Resedaceae entspringend) wahrscheinlich geworden. Zwar gelang es teils der Schleimigkeit, teils (Gossypium) der Giftigkeit der Samen (es muß sich um Eiweiß-Gifte handeln) wegen nicht, bisher ein Malvaceen-Immunserum zu erhalten, aber die Malvaceae wurden von den Resedaceae aus mehrfach mit positiver Reaktion erreicht. Damit ist bestätigt, daß die Vielzahl der Stamina bei den Columniferae auf natürliche Verwandtschaft mit den Resedaceae, Cistaceae, Guttiferae hinweist. Das Zustandekommen der bei diesen Familien mehrfach vorkommenden Ovar-Fächerung zu untersuchen wird notwendig sein. — Obgleich, weil nicht im Thema der Arbeit liegend, Versuche mit den Sterculiaceae, Tiliaceae und Bombaceae nicht gemacht wurden, kann doch jetzt bereits die Abstammung auch dieser Familien von der Basis des Parietales-Astes des Phanerogamen-Systems mit Wahrscheinlichkeit behauptet werden. Ob dieser Columniferae-Zweig aber von der Linie Resedaceae → Capparidaceae oder von der Linie Resedaceae → Guttiferae abgeht, bleibt fernerer Untersuchung vorbehalten.

Serologisch gehören mit Sicherheit zusammen die auch bisher schon allgemein zusammengestellten Familien der Guttiferae, Ochnaceae und Theaceae; sie leiten sich von der Parietales-Linie Resedaceae → Capparidaceae ab. Auch die Bixaceae und Cistaceae sind sich nach ihren Serum-Reaktionen nächst verwandt und haben gleichen Ursprung, doch getrennt von der Guttiferae-Gruppe, von den niederen Parietales.

Als näher zusammengehörige, serologisch verwandte Familien haben sich unter den höheren Parietales die Loasaceae und Cacteae einerseits, die Passifloraceae, Caricaceae und Datiscaceae (denen wohl die Begoniaceae anzugliedern sind) anderseits erwiesen. — Die Fortsetzung der Parietales-Linie zu den Cucurbitaceae → Campanulaceae → Compositae wurde von neuem bestätigt.

Die ausführliche Darstellung dieser serologischen Untersuchungen findet sich in der Arbeit von Alfred Preuß „Sero-diagnostische Untersuchungen über die Verwandtschaften innerhalb der Pflanzengruppe der Parietales“ (Dissertation Königsberg 1914).



Die ⌣ gibt das Minimum der Absorption an.

Fig. 1

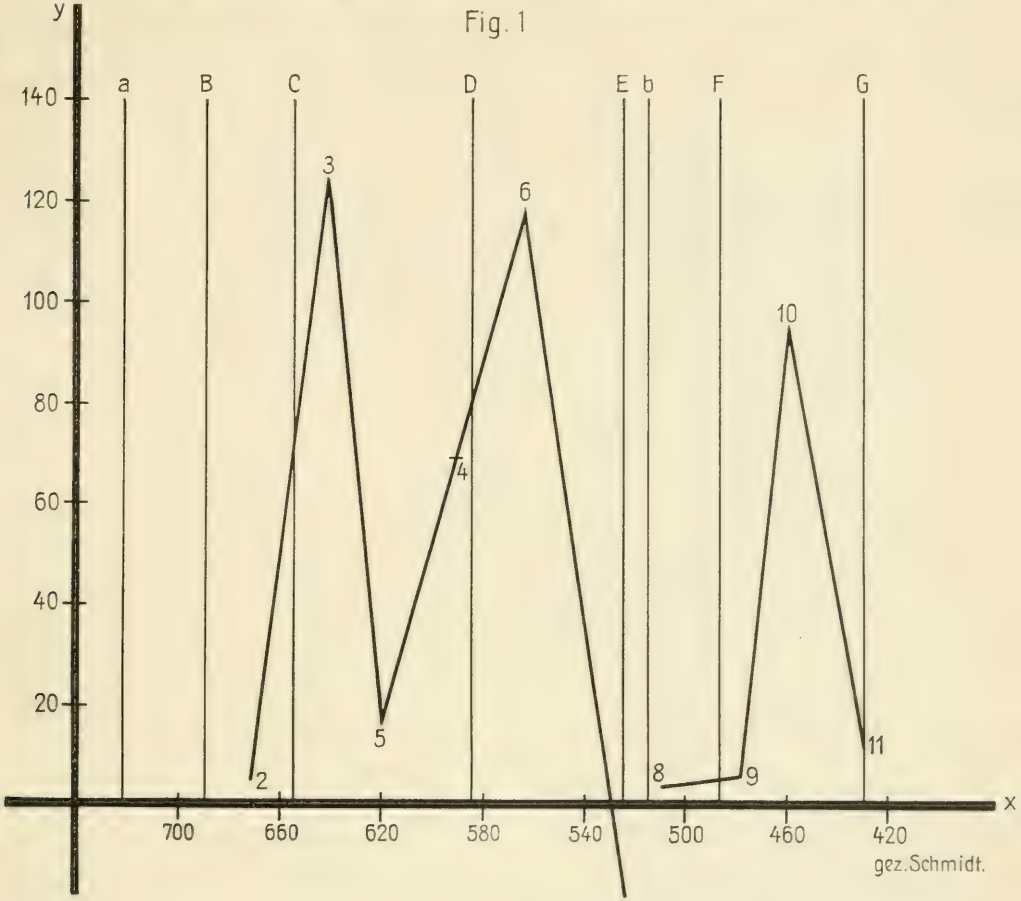
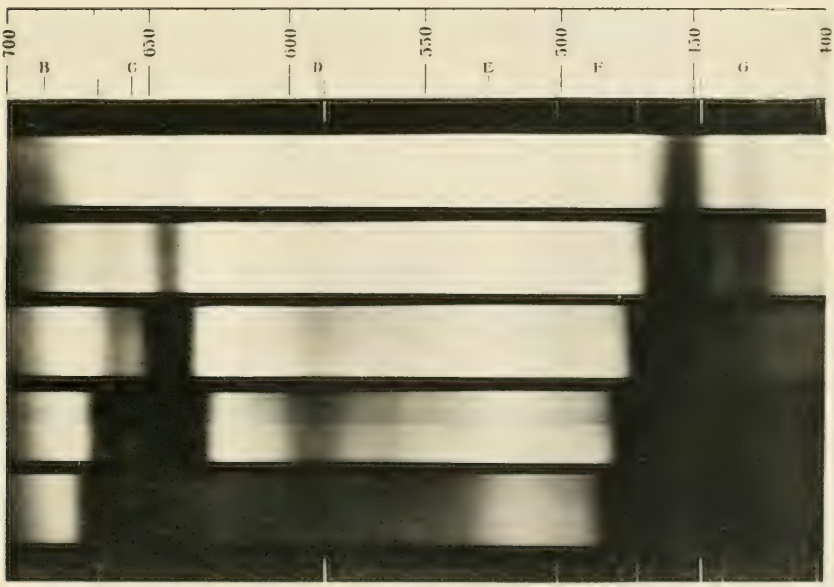
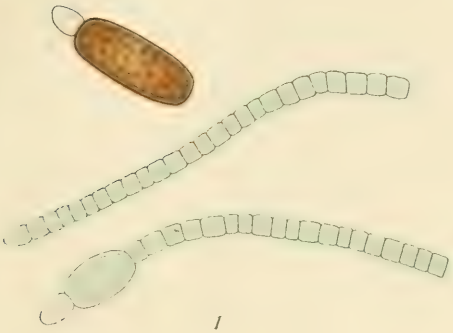
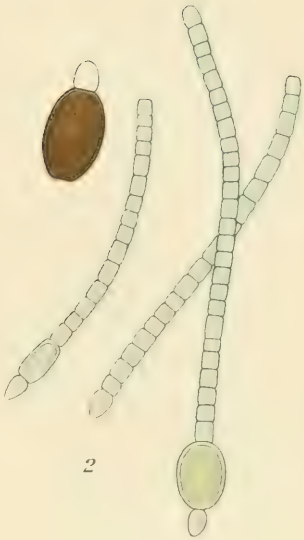

y
140
120
100
80
60
40
20
a
B
C
D
E
b
F
G
1
2
3
4
5
6
8
9
10
11
x
700
660
620
580
540
500
460
420
gez. Schmidt.

Fig. 2


700
650
600
550
500
450
400
B
C
D
E
F
G

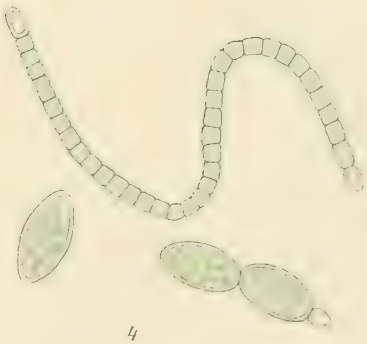


1

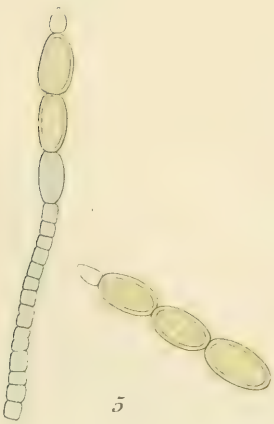


2

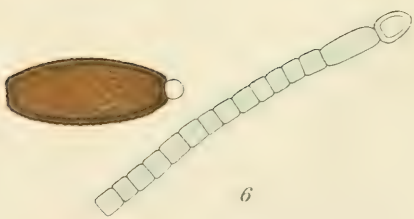
3



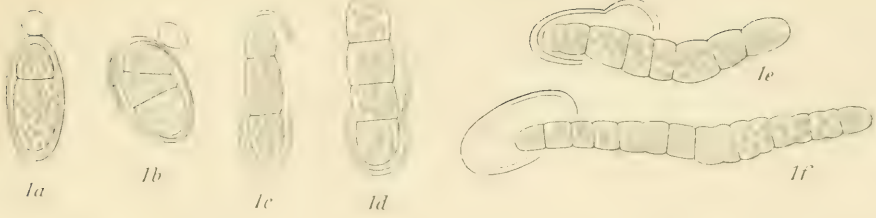
4

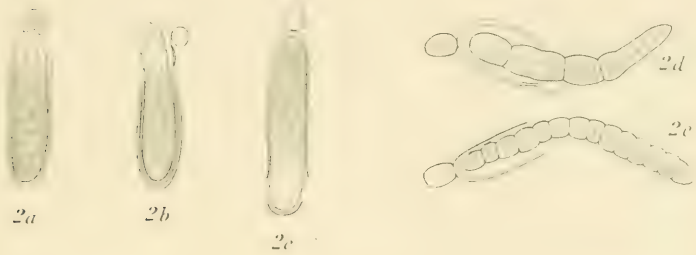


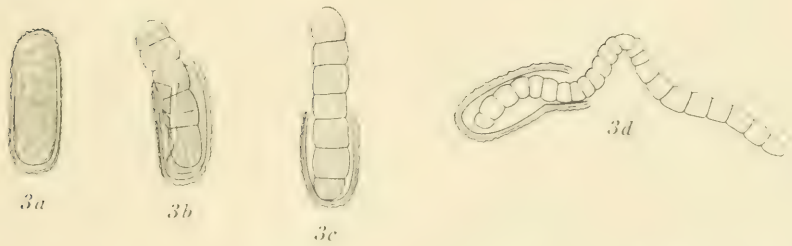
5



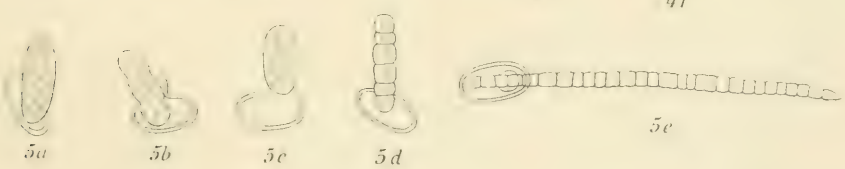
6

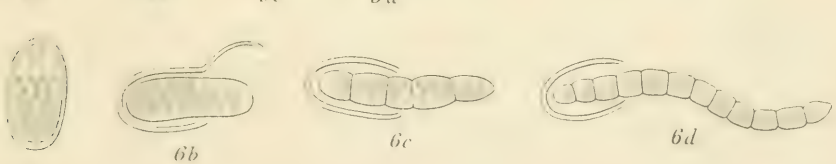

1a
1b
1c
1d
1e
1f


2a
2b
2c
2d
2e


3a
3b
3c
3d

4a
4b
4c
4d
4e
4f
4g


5a
5b
5c
5d
5e


6a
6b
6c
6d

Beiträge

zur

Biologie der Pflanzen.

Begründet von

Professor Dr. Ferd. Cohn,

herausgegeben von

Dr. Felix Rosen,
Professor an der Universität Breslau.

Zwölfter Band. Drittes Heft.
Mit einer Tafel.

Breslau 1914.
J. U. Kern's Verlag
(Max Müller).

Inhalt des dritten Heftes.

Seite

Über den Einfluß des Lichtes auf etiolierte Blätter. Von Erich Schönfeld 351

Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen. IV. Mitteilung. Die Ernährung von Haematococcus pluvialis Flot. Von Ernst G. Pringsheim 413

Über den Einfluß des Quecksilberdampflichtes auf die Keimung und das erste Wachstum von Pflanzen. Von Dr. Walther Carl. (Mit Tafel VII.) 435

Das Wachstum von Blaualgen in mineralischen Nährlösungen. Von Heinrich Maertens 439

Über den Einfluß des Lichtes auf etiolierte Blätter.

Von **Erich Schönfeld.**

Einleitung.

Die Erscheinungen des Etiolements sind schon seit mehr als 100 Jahren Gegenstand wissenschaftlicher Beobachtung und Untersuchung. Man unterscheidet hinsichtlich des Verhaltens der höheren Pflanzen im Dunkeln im großen und ganzen zwei Typen, den der Monokotyledonen und den der Dikotyledonen. Die Monokotyledonen treiben zumeist im Dunkeln lange Blätter und kurze, gestauchte Internodien. Die Dikotyledonen entwickeln kleine Blätter und übermäßig lange Internodien. Ausnahmen sind jedoch auf beiden Seiten vorhanden[1]).

Um die Ursachen für das verschiedene Verhalten der beiden Typen beim Etiolieren zu ergründen, sind besonders seit Sachs Arbeiten[2]) zahlreiche Versuche und Untersuchungen in mannigfacher Weise angestellt worden. Sachs und nach ihm viele andere[3]) führten auch nur den Endsproß einer grünen Pflanze in einen Dunkelraum und ließen ihn dort weiter wachsen. Batalin[4]) kultivierte die ganzen Pflanzen im Dunkeln, unterwarf sie jedoch täglich einer $1^1/_2$- bis 3stündigen Beleuchtung, wobei er ein Ergrünen der Pflanzen vermied. God-

---

[1]) Jost, Vorlesungen über Pflanzenphysiologie. 2. Aufl. Jena 1908, S. 369.

[2]) Sachs, Über den Einfluß des Tageslichtes auf Neubildung und Entfaltung verschiedener Pflanzenorgane. Bot. Ztg., Bd. 21, 1863, Beilage. — Sachs, Wirkung des Lichtes auf die Blütenbildung unter Vermittlung der Laubblätter. Bot. Ztg. 1865, S. 117. — Vgl. ferner Sachs, Lehrbuch der Botanik. 4. Aufl. Leipzig 1874, und Ges. Abhandlungen über Pflanzenphysiologie. I. Bd. Leipzig 1892.

[3]) Amelung, Über Etiolement. Flora 1894, S. 204. — C. Vogt, Über Abhängigkeit des Laubblattes von seiner Assimilationstätigkeit. Inaug.-Diss. Erlangen 1898. — Téodoresco, Action indirecte de la lumière sur la tige et les feuilles. Revue générale de botanique. Bd. 11. 1899, S. 369. — Dubbels, Über den Einfluß der Dunkelheit auf die Ausbildung der Blätter und Ranken einiger Papilionaceen. Inaug.-Diss. Kiel 1904.

[4]) Batalin, Über die Wirkung des Lichtes auf die Entwicklung der Blätter. Bot. Ztg., Bd. 29, 1871. S. 669.

lewski[1]) läßt ebenfalls die Pflanzen ganz im Dunkeln wachsen, vergleicht sie dann aber nicht mit völlig unter normalen Bedingungen gewachsenen Pflanzen, sondern, um den Einfluß der Assimilation auszuschalten, mit solchen, die er im kohlensäurefreien Raum gezogen hat. Außerdem arbeitet er noch mit isolierten Organen. Wiesner[2]) endlich ändert die Wachstumsbedingungen durch verschieden hohen Feuchtigkeitsgehalt der Luft im Dunkelraum.

Einen ganz anderen Weg schlägt Ricôme[3]) ein. Er kultiviert Pflanzen im Dunkeln, bringt sie jedoch später dauernd ans Licht und vergleicht sie dann mit normalen, d. h. dem regelmäßigen Wechsel von Tag und Nacht ausgesetzten Pflanzen. Seine Untersuchungen erstrecken sich auf Solanum tuberosum, Faba vulgaris, Ervum Lens, Ricinus communis, Perilla nankinensis, Sinapis alba, Cheiranthus Cheiri, Senecio Jacobaea. Er stellt fest, daß das Frisch- und Trockengewicht etioliert gewesener, späterhin ergrünter Pflanzen geringer ist, als das normaler, daß die Internodien am Licht ihr Wachstum einstellen und die dann zunächst gebildeten Internodien kürzer, die späteren gleich den normalen sind. Die Blätter verhalten sich verschieden. Die einen wachsen am Licht überhaupt nicht weiter, die andern wachsen weiter, erreichen aber nicht normale Größe. Schließlich hat Ricôme bei Solanum tuberosum, Ricinus communis, Ervum Lens und Faba vulgaris noch Blätter beobachtet, die auch weiter wachsen und am Ende des Versuches sogar die normalen Blätter in ihren Dimensionen übertreffen. In diesem Falle handelt es sich, wie er wenigstens für Solanum tuberosum angibt, um die Blätter, die zur Übergangszeit entweder im Dunkeln oder am Licht entstanden sind. Ricôme ist in seiner Arbeit nur auf diese Blätter eingegangen; etwas Näheres über das Verhalten der anderen findet sich bei ihm nicht.

Es wurde mir nun die Aufgabe gestellt, zu untersuchen,

> ob und inwieweit etiolierte Blätter nach dem Etiolement noch fähig sind, sich normal zu entwickeln; ob bei der Entwicklung nach dem Etiolement etwa von der normalen abweichende Blattformen auftreten, welcher Art diese dann sind, und wodurch sie hervorgerufen werden.

Mit anderen Worten, ich sollte feststellen, ob und wie das Licht das etiolierte Blatt formativ beeinflußt.

---

[1]) Godlewski, Zur Kenntnis der Ursachen der Formänderung etiolierter Pflanzen. Bot. Ztg., Bd. 37, 1879, S. 81.

[2]) Wiesner, Formänderungen von Pflanzen bei Kultur im absolut feuchten Raume und im Dunkeln. Ber. d deut. bot. Ges. Bd. 9, 1891, S. 46.

[3]) Ricôme, Sur le développement des plantes étiolées ayant reverdi à la lumière. Compt. rend. Bd. 31, 1900; Ricôme, Action de la lumière sur des plantes préalablement étiolées. Revue générale de botanique. Bd. 14, 1902, S 26.

Es handelte sich also zunächst darum, die auf die Gestalt und Größe der Blätter sich beziehenden Angaben Ricômes zu prüfen und eventuell durch andere Beispiele zu bestätigen, vor allem auch das Verhalten der etiolierten Blätter, die nach Ricôme nicht die normale Größe erreichen oder überhaupt nicht weiterwachsen, genauer zu untersuchen. Ferner war dann festzustellen, wovon das verschiedene Verhalten der Blätter abhängig ist.

Methodik.

Die Pflanzen können im Dunkeln nicht assimilieren und sind folglich in ihrer Ernährung nur auf die von Anfang an in ihnen steckenden Reservestoffe angewiesen. Es war daher zweckmäßig, bei meinen Versuchen stets von reservestoffreichen Samen oder von Knollen, Zwiebeln und Wurzelstöcken auszugehen, um so Pflanzen zu erzielen, die möglichst lange im Dunkeln wachsen können. Die Samen ließ ich in Wasser anquellen und in Sägespänen keimen. Sie wurden dann, ebenso wie die Knollen, Zwiebeln und Wurzelstöcke in Töpfe in Erde gesteckt. Die Töpfe einer Serie wurden bis auf einen, der als Vergleichsexemplar am Licht blieb, ins Dunkle gebracht, um später einer nach dem anderen nach einem mehr oder minder langen Etiolement wieder ans Licht zurückgenommen zu werden. Als Dunkelraum diente mir zunächst ein im Erdgeschoß des botanischen Instituts befindliches Dunkelzimmer, in dem für Durchlüftung gut gesorgt und der Türverschluß durch schwarze Filzleisten gut abgedichtet war. Späterhin verwendete ich einen mit doppelter Tür versehenen Dunkelschrank und einen in einem Dunkelzimmer stehenden Schrank. Außerdem gaben schwarze Pappzylinder gute kleine Dunkelräume ab. Sie wurden über Tonuntersetzer, in denen die Töpfe standen, gestülpt. Um den Rand wurden zum Abdichten schwarze Tücher gelegt.

In allen diesen Dunkelräumen machte sich jedoch eine Schwierigkeit bemerkbar. Der relative Feuchtigkeitsgehalt der Luft war zu groß gegenüber dem Feuchtigkeitsgehalt der Luft am Standorte der Vergleichsexemplare. Die ersten aus dem Dunkeln ans Licht gebrachten und neben die Vergleichsexemplare gestellten Pflanzen gingen zugrunde, weil am neuen Standorte infolge des weit geringeren Feuchtigkeitsgehaltes der Luft plötzlich bedeutend stärkere Transpiration stattfand als im Dunkeln, so daß die Pflanzen das transpirierte Wasser nicht schnell genug zu ersetzen vermochten. Ich schaffte dadurch Abhilfe, daß ich in die Schränke und unter die Pappzylinder auf dem Ofen ausgetrocknete Backsteine legte und sie alle zwei Tage wechselte. So wurde der Feuchtigkeitsgehalt der Luft um durchschnittlich 20% herabgesetzt. Schließlich fand ich in einem unter dem Gewächshause

befindlichen Dunkelraum einen geeigneten Platz, wo ich meine Pflanzen unterbringen konnte, ohne irgendwelche Maßregeln zur Herabsetzung des Feuchtigkeitsgehaltes der Luft anwenden zu müssen. Da der Raum genügende Größe hatte, wurden fortan sämtliche Pflanzen dort untergebracht.

Infolge des immerhin noch großen Transpirationsunterschiedes ertrugen jedoch die Pflanzen den Übergang von der Dunkelheit in direktes Licht nur schwer. Es wurde deshalb als Zwischenstufe durch Vorstellen geeigneter Schirme ein Raum hergestellt, in den keine direkten Strahlen fallen konnten, und in dem die Pflanzen einige Tage bleiben mußten, bevor sie in direktes Licht kamen. Die Vergleichsexemplare standen teils in dem an das botanische Institut angebauten kleinen Gewächshaus, teils in einem Gewächshause des botanischen Gartens.

Es war von vornherein zu erwarten, daß für das Verhalten der Blätter nach dem Etiolement die Wachstumsverteilung im Blatt und die Art und Weise, wie der Verlauf der Entwicklung unter normalen Bedingungen erfolgt, von Einfluß ist. Beides mußte also festgestellt werden. Ferner war zu beobachten, ob die Blätter beim Übergang der Pflanzen vom Dunkeln ins Licht bereits zu wachsen aufgehört hatten oder nicht. Zu dem Zwecke wurden sorgfältig gleichweit entfernte Tuschemarken an den jungen Blättern angebracht und deren Abstand während der Entwicklung des Blattes möglichst oft gemessen, bis das Blatt in allen Teilen ausgewachsen war. Diese sowie alle anderen Messungen wurden mit dem Maßstab oder mit dem Meßzirkel vorgenommen.

Im Laufe der Untersuchungen stellte es sich dann tatsächlich heraus, daß die Entwicklung des Blattes in engsten Beziehungen zu dem Verhalten nach dem Etiolement steht. Es ist deshalb wohl zweckmäßig, im folgenden die Pflanzen, deren Blätter gleiche Entwicklung zeigen, nebeneinander zu stellen. Ich werde also behandeln:

1. Einfache Dikotyledonenblätter mit basipetaler Entwicklung;
2. zusammengesetzte Dikotyledonenblätter
   a) mit basipetaler Entwicklung,
   b) „ akropetaler „
   c) „ ternierender „
3. Monokotyledonenblätter mit basipetaler Entwicklung.

Einfache Dikotyledonenblätter.

Zum ersten Versuch nahm ich den vielfach zum Etiolieren verwendeten *Phaseolus multiflorus*.

Die in Sägespänen gekeimten Samen wurden am 8. Mai 1912 in Töpfe gepflanzt. Ein Topf wurde am Licht belassen, die anderen sofort ins

Dunkle gebracht. Am 17. Mai wurde der erste Topf aus dem Dunkeln ins Licht zurückgesetzt; die anderen folgten später nacheinander. Die Beobachtungen erstreckten sich sowohl auf die einfachen, ganzrandigen Primärblätter als auch auf die einzelnen Blättchen der aus drei Fiedern zusammengesetzten Fiederblätter. Es wurde festgestellt, daß die Entwicklung sowohl der Primärblätter als auch der einzelnen Fiedern basalwärts erfolgt. Die interkalare Wachstumszone liegt also wie bei den „meisten sogenannten einfachen Blättern der Basis des Blattes genähert[1])." Die Länge der Blattspreite wurde längs der Mittelrippe von der Ansatzstelle am Stiel bis zur Spitze des Blattes gemessen, die Breite querüber senkrecht zur Mittelrippe.

Die erste Tabelle zeigt das Verhalten der Primärblätter. Hier, wie in allen folgenden Tabellen, stehen unter Nr. 0 die Messungen, die am normalen Vergleichsexemplar, d. h. an der dem regelmäßigen Wechsel von Tag und Nacht ausgesetzten Pflanze, vorgenommen worden sind. Unter Nr. 1, Nr. 2, Nr. 3 usf. folgen dann die Größen der etioliert gewesenen Pflanzen, wie sie der Reihe nach ans Licht zurückgebracht wurden. Nr. 1 ist also das erste Exemplar, das ans Licht kommt, und zwar wird es nach 9 Tagen, also am 17. V., aus dem Dunkelraum herausgenommen, um von jetzt ab dauernd am Licht zu bleiben. Am gleichen Tage werden zum ersten Male seine Maße mit denen des normalen Vergleichsexemplares verglichen. Nr. 2 wird erst am 21. V. ans Licht gebracht und an diesem Tage zum ersten Male gemessen. Am 4. VI. folgt dann Nr. 3. Die Größen sind hier wie in allen folgenden Tabellen in Millimetern angegeben.

Tabelle I.

Primärblätter von Phaseolus multiflorus.

Alle Maßangaben in Millimetern; die Angaben für die am Licht befindlichen Exemplare sind fett gedruckt. Beginn des Versuches am 8. Mai 1912. Die Bohnen wurden in 5 Töpfe gepflanzt. Davon ist

	Nr. 0 normales Vergleichs-exemplar	Nr. 1 bleibt 9 Tage im Dunkeln	Nr. 2 bleibt 13 Tage im Dunkeln	Nr. 3 bleibt 27 Tage im Dunkeln	Nr. 4 bleibt 37 Tage im Dunkeln
Nach 9 Tagen, am 17. V., ist die Länge d. Stieles	71	**65**			
die Länge der Spreite	115	**29**			
die Breite der Spreite	89	**25**			

Wachstum bereits eingestellt, kommt jetzt ans Licht

[1]) Sonntag, Über Dauer des Scheitelwachstums und Entwicklungsgeschichte des Blattes. Jahrb. f. wiss. Botanik, Bd. 18, 1887, S. 244 u. 246.

	Nr. 0 normales Vergleichs-exemplar	Nr. 1 bleibt 9 Tage im Dunkeln	Nr. 2 bleibt 13 Tage im Dunkeln	Nr. 3 bleibt 27 Tage im Dunkeln	Nr. 4 bleibt 34 Tage i. Dunkeln
Nach 13 Tagen, am 21. V., ist die Länge d. Stieles	74	68 ist vollkommen ergrünt	86 Wachstum eingestellt, kommt jetzt ans Licht		
die Länge der Spreite	121	91	34		
die Breite der Spreite	93	89	29		
Nach 27 Tagen, am 4. VI., ist die Länge d. Stieles	74	68	92 ist vollkommen ergrünt	130 Wachstum eingestellt, kommt jetzt ans Licht	
die Länge der Spreite	121	91	68	34	
die Breite der Spreite	93	89	71	29	
Nach 34 Tagen, am 11. VI.	—	—	—	Blätter beginnen braun zu werden u. abzusterben, ohne zuvor ergrünt od. gewachsen zu sein	Primärblätter abgefallen.

Aus der Tabelle geht hervor, daß die Länge der Spreite bei den etiolierten Blättern nach dem Etiolement nicht in dem Maße zunimmt, wie die Breite. Das Verhältnis von Länge zu Breite ausgewachsener normaler Blätter ist nun nahezu konstant. Durch dieses Verhältnis wird die Form des Blattes bestimmt. Eine Änderung des Verhältnisses bedeutet also gleichzeitig eine Änderung der Blattgestalt. Aus den angegebenen Zahlen ergibt sich nun als Verhältnis von Blattlänge zu Blattbreite bei den ausgewachsenen Blättern

Nr. 0 Nr. 1 Nr. 2 Nr. 3 (etioliert)
1,301 : 1, 1,022 : 1, 0,958 : 1, 1,179 : 1.

Die wieder ergrünten Blätter besitzen also eine relativ größere Breite als die normalen. (Vgl. Fig. 1—3, Seite 357.)

Die Primärblätter von Nr. 3 konnten am Licht nicht weiter zur Entwicklung gebracht werden. Ohne zu ergrünen und zu wachsen begannen sie am 14. Juni sich zu bräunen und abzusterben.

Genau so wie die Primärblätter verhalten sich hinsichtlich der Spreite auch die einzelnen Fiederblättchen. Tabelle II gibt das Verhalten des Endblattes des ersten Fiederblattes wieder.

Tabelle II.

Endfieder des 1. Fiederblattes von Phaseolus multiflorus.

Alle Maßangaben in Millimetern; die Angaben für die am Licht befindlichen Exemplare sind fettgedruckt. Beginn des Versuches

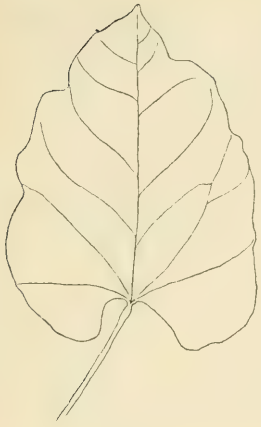


Fig. 1.
Primärblatt einer normalen Pflanze von Phaseolus multiflorus.

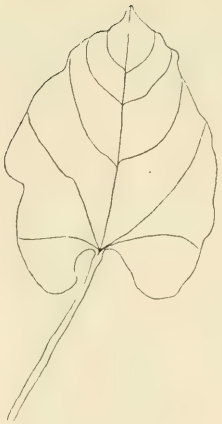


Fig. 2.
Primärblatt einer Pflanze, die 9 Tage im Dunkeln u. dann am Licht war.

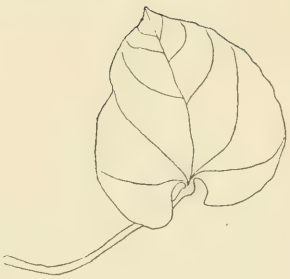


Fig. 3.
Primärblatt einer Pflanze, die 13 Tage im Dunkeln u. dann am Licht war.

am 8. V. 1912. Die Bohnen wurden in 5 Töpfe gepflanzt. Davon ist

	Nr. 0 normal. Vergl.-Expl.	Nr. 1 bleibt 9 Tage im Dunkeln	Nr. 2 bleibt 13 Tage im Dunkeln	Nr. 3 bleibt 27 Tage im Dunkeln	Nr. 4 bleibt 37 Tage im Dunkeln
Nach 9 Tagen, am 17. V., ist die Länge der Spreite	59	10 Wachstum noch nicht eingestellt, kommt jetzt ans Licht			
die Breite der Spreite	38	6			
Nach 13 Tagen, am 21. V, ist die Länge der Spreite	80	59 ist vollkommen ergrünt	13 Wachstum bereits eingestellt, kommt jetzt ans Licht		
die Breite der Spreite	46	36	8		
Nach 27 Tagen, am 4. VI, ist die Länge der Spreite	89	65	44 ist vollkommen ergrünt	13 Wachstum eingestellt, kommt jetzt ans Licht	
die Breite der Spreite	53	46	27	8	
Nach 37 Tagen, am 14. VI., ist die Länge der Spreite	89	69	53	15 vollkommen ergrünt	13 Wachstum eingestellt, kommt jetzt ans Licht
die Breite der Spreite	53	47	34	18	8

Der Kürze halber gebe ich für die Endfieder des zweiten Fiederblattes nur die letzte Messung und das Verhältnis von Länge zu Breite wieder. (Vgl. Fig. 4—7.)

Fig. 4.

Fig. 5.

Fig. 6.

Fig. 7.

Fig. 4: Fiederblatt einer normalen Pflanze von Phaseolus multiflorus.
Fig. 5: Fiederblatt einer Pflanze, die 9 Tage im Dunkeln und dann am Licht war.
Fig. 6: „ „ „ „ 13 „ „ „ „ „ „ „ „
Fig. 7: „ „ „ „ 27 „ „ „ „ „ „ „ „

Tabelle III.

Endfieder des 2. Fiederblattes von Phaseolus multiflorus.

Alle Maßangaben in Millimetern; die Angaben für die am Licht befindlichen Exemplare sind fettgedruckt. Beginn des Versuches am 16. Januar 1913. Die Bohnen wurden in 5 Töpfe gepflanzt. Davon ist

	Nr. 0 normales Vergleichs-exemplar	Nr. 1 9 Tage im Dunkeln gewesen	Nr. 2 13 Tage im Dunkeln gewesen	Nr. 3 27 Tage im Dunkeln gewesen	Nr. 4 37 Tage im Dunkeln
Nach 37 Tagen, am 14. VI., ist die Länge der Fieder	**97**	**78**	**57**	**38**	13
die Breite der Fieder	**61**	**53**	**43**	**43**	8
das Verhältnis v. Länge : Breite	1,598 : 1	1,471 : 1	1,357 : 1	0,884 : 1	1,625 : 1

Eine Angabe Ricômes[1]), nach der Blätter von Phaseoluspflanzen, die während des Sommers im Dunkeln kultiviert wurden, normale Entwicklung zeigten, kann ich nach meinen Beobachtungen nicht bestätigen.

Merkwürdig ist das Verhalten des Blattstieles der Primärblätter. Solange die Blattspreite im Dunkeln noch wächst, bleibt er klein, d. h. er erreicht bei weitem noch nicht die normale Größe. Hat jedoch die Spreite ihr Wachstum eingestellt, so beginnt der Stiel mächtig zu wachsen und übertrifft schließlich die Größe eines normalen ganz

[1]) Ricôme, a. a. O., S. 26.

bedeutend. Werden die Pflanzen ans Licht gebracht, so erfährt der Blattstiel noch eine, wenn auch nicht so starke Verlängerung, sowohl wenn er kleiner, als auch wenn er größer ist als der normale.

Der nächste Versuch wurde mit einer ostasiatischen Cucurbitacee angestellt, nämlich mit

Actinostemma paniculata.

Die Blätter sind spitz gelappt und lang gestielt, jedoch erst vom vierten Blatt an. Das erste Blatt ist schuppenartig und ganzrandig. Beim zweiten und dritten treten bereits die Spitzen der einzelnen Lappen hervor. Die Entwicklung der Blätter erfolgt wie bei allen Cucurbitaceen[1]) basipetal. Der Versuch währte vom 21. Februar 1913 bis 14. Mai. Aus Tabelle IV geht das Verhalten der Blätter hervor. Die hier angegebenen Messungen beziehen sich auf das 6. Blatt.

Tabelle IV.

6. Blatt von Actinostemma paniculata.

Alle Maßangaben in Millimetern; die Angaben für die am Licht befindlichen Exemplare sind fettgedruckt. Beginn des Versuches am 21. Februar 1913. Die Knollen wurden in 5 Töpfe gepflanzt. Davon ist

	Nr. 0 normal. Vergl.-Expl.	Nr. 1 bleibt 21 Tage im Dunkeln	Nr. 2 bleibt 24 Tage im Dunkeln	Nr. 3 bleibt 32 Tage im Dunkeln	Nr. 4 bleibt 82 Tage im Dunkeln
Nach 21 Tagen, am 14. III., ist die Länge d. Stieles	**2**	2 hat das Wachstum noch nicht ganz eingestellt, kommt jetzt ans Licht			
die Länge der Spreite	**7**	5			
die Breite der Spreite	**5**	5			
Nach 24 Tagen, am 17. III., ist die Länge d. Stieles	**2**	2 ist vollkommen ergrünt	2 hat das Wachstum eingestellt, kommt jetzt ans Licht		
die Länge der Spreite	**9**	5	5,5		
die Breite der Spreite	**6**	5	5		
Nach 32 Tagen, am 25. III., ist die Länge d. Stieles	**8**	**3**	**4** ist vollkommen ergrünt	3,5 hat das Wachstum eingestellt, kommt jetzt ans Licht	
die Länge der Spreite	**17**	**6**	**6**	6	
die Breite der Spreite	**16**	**7**	**7**		

[1]) Prantl, Studien über Wachstum, Verzweigung und Nervatur der Laubblätter, insbesondere der Dikotylen. Ber. d. deut. bot. Ges., Bd. I. 1883, S. 282.

	Nr. 0 normal Vergl.-Expl.	Nr. 1 bleibt 21 Tage im Dunkeln	Nr. 2 bleibt 24 Tage im Dunkeln	Nr. 3 bleibt 32 Tage im Dunkeln	Nr. 4 bleibt 82 Tage im Dunkeln
Nach 82 Tagen, am 14. V., ist die Länge d. Stieles	46	19	6	ist nach 18 Tagen abgestorben, ohne zuvor entfaltet, ergrünt od. gewachsen zu sein	3,5 hat das Wachstum eingestellt
die Länge der Spreite	50	15	8		6
die Breite der Spreite	47	22	12		5,5

Das Verhältnis von Blattlänge zu Blattbreite ist also am Ende des Versuches

Nr. 0	Nr. 1	Nr. 2	Nr. 3 (etioliert)
1,072 : 1,	0,682 : 1,	0,667 : 1,	1,09 : 1

Das siebente Blatt besitzt am 14. Mai folgende Maße:

Tabelle V.

7. Blatt von Actinostemma paniculata.

Alle Maßangaben in Millimetern; die Angaben für die am Licht befindlichen Exemplare sind fettgedruckt. Beginn des Versuches am 21. Februar 1913. Die Knollen wurden in 5 Töpfe gepflanzt. Davon ist

	Nr. 0 normal Vergl.-Expl.	Nr. 1 21 Tage im Dunkeln gewesen	Nr. 2 24 Tage im Dunkeln gewesen	Nr. 3 32 Tage im Dunkeln gewesen	Nr. 4 82 Tage im Dunkeln
Nach 82 Tagen, am 14. V., ist die Länge d. Stieles	51	14 hatte das Wachstum noch nicht ganz eingestellt	9 hatte das Wachstum ganz eingestellt	3 ist ergrünt, aber nicht weitergewachsen	ist, ohne entfaltet, ergrünt oder gewachsen zu sein, abgestorben
die Länge der Spreite	55	13	9	6	
die Breite der Spreite	50	18	14	6	

Hier ergibt das Verhältnis von Länge zu Breite

Nr. 0	Nr. 1	Nr. 2	Nr. 3 (etioliert)
1,1 : 1,	0,722 : 1,	0,643 : 1,	1 : 1

Die etioliert gewesenen Blätter zeigen hier also auch relativ größere Breite als die normalen. Ihre Breite übertrifft sogar die Länge. Wie die Fig. 8—15 (siehe Seite 361) zeigen, treten außerdem die Spitzen der einzelnen Lappen bei weitem nicht so scharf hervor wie bei dem normalen Blatt.

Die entsprechenden Blätter von Nr. 4 hielten sich 16 Tage lang lebend am Licht ohne zu ergrünen, ohne sich zu entfalten und ohne

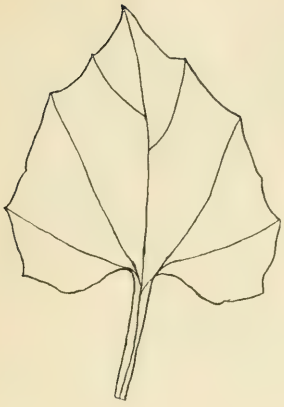


Fig. 8.

Fig. 9.

Fig. 10.

Fig. 11.

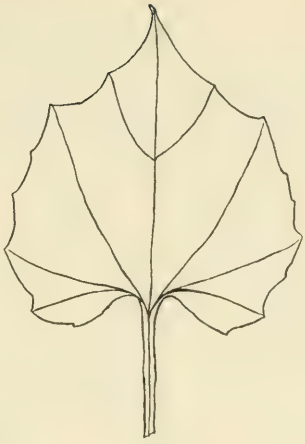


Fig. 12.

Fig. 13.

Fig. 14.

Fig. 15.

Fig. 8: 6. Blatt einer normalen Pflanze von Actinostemma paniculata.
„ 9: 6. „ „ Pflanze, die 21 Tage im Dunkeln und dann am Licht war.
„ 10: 6. „ „ „ „ 24 „ „ „ „ „ „ „ „
„ 11: 6. „ „ „ „ 32 „ „ „ stand.
„ 12: 7. „ „ normalen Pflanze von Actinostemma paniculata.
„ 13: 7. „ „ Pflanze, die 21 Tage im Dunkeln und dann am Licht war.
„ 14: 7. „ „ „ „ 24 „ „ „ „ „ „ „ „
„ 15: 7. „ „ „ „ 32 „ „ „ stand.

zu wachsen. Dann begannen sie braun zu werden und abzusterben. Das nächstjüngere Blatt, das achte also, vermochte wohl zu ergrünen, aber nicht mehr zu wachsen. Erst vom 9. Blatt ab zeigte sich wieder Wachstum.

Die ersten 5 Blätter von Topf 3 waren zwar alle noch ergrünt, doch konnte ein Wachstum nur bei dem 5. konstatiert werden.

Der Blattstiel bleibt im Dunkeln klein und vermag auch später am Licht die normale Größe bei weitem nicht zu erreichen. Ebenso erreichen auch die im Dunkeln gebildeten, in den Blattachseln auftretenden Ranken niemals normale Länge.

Sowohl hinsichtlich des Verhaltens der Spreite als auch des Blattstieles stimmt

Helianthus tuberosus

mit Actinostemma paniculata überein. Die Blätter von Helianthus tuberosus sind langgestielt, spitz-eiförmig, grob gezähnt. Ihre Entwicklung erfolgt basipetal. — Die Knollen wurden am 3. April 1913 in Töpfe gepflanzt und gleich ins Dunkle gestellt. Am 17. Mai wurde der erste Topf ans Licht zurückgebracht, am 15. Juli der ganze Versuch beendet. Die Größenverhältnisse des 4. Blattes waren am Ende des Versuches:

Tabelle VI.

4. Blatt von Helianthus tuberosus.

Alle Maßangaben in Millimetern; die Angaben für die am Licht befindlichen Exemplare sind fettgedruckt. Beginn des Versuches am 20. April 1913. Die Knollen wurden in 5 Töpfe gepflanzt. Davon ist

	Nr. 0 normal. Vergl.-Expl.	Nr. 1 27 Tage im Dunkeln gewesen	Nr. 2 41 Tage im Dunkeln gewesen	Nr. 3 56 Tage im Dunkeln gewesen	Nr. 4 86 Tage im Dunkeln
Nach 86 Tagen, am 15. VII., ist die Länge d. Stieles	81	50	33	32	32
die Länge der Spreite	168	108	92	33	24
die Breite der Spreite	78	60	55	25	10

hatte das Wachstum noch nicht eingestellt

hatte das Wachstum eingestellt

hatte das Wachstum eingestellt

Fig. 16.

Fig 17.

Fig. 18.

Fig. 19.

Fig. 20.

Fig. 16: Normales Blatt von Helianthus tuberosus.
„ 17: Blatt einer Pflanze, die 27 Tage im Dunkeln und dann am Licht war.
„ 18: „ „ „ „ 41 „ „ „ „ „ „ „ „
„ 19: „ „ „ „ 56 „ „ „ „ „ „ „ „
„ 20: etioliertes Blatt.

Als Verhältnis von Länge zu Breite ergibt sich

Nr. 0	Nr. 1	Nr. 2	Nr 3	Nr. 4 (etioliert)
2,154 : 1,	1,8 : 1,	1,673 : 1,	1,32 : 1,	2,4 : 1

Die etioliert gewesenen Blätter sind auch hier wieder relativ breiter (vgl. Fig. 16—20, siehe S. 362). Außerdem kann man beobachten, daß die sonst ziemlich scharf hervortretenden Zähne nur sehr mangelhaft ausgebildet sind.

Die Blätter von Nr. 2 und Nr. 3 hatten, bevor die Pflanzen ans Licht gebracht wurden, das Wachstum schon eingestellt. Ihre Länge betrug 24 mm, ihre Breite 10 mm. Die Ränder der Blätter waren im Dunkeln nach oben gebogen. Am Licht entfalteten sie sich jedoch vollkommen.

Die ersten Blätter waren zum Teil schon im Dunkeln abgestorben, zum Teil vermochten sie am Licht weder zu ergrünen noch weiter zu wachsen und gingen nach 11 Tagen zugrunde.

Der Blattstiel erreichte die normale Größe nie.

Den beiden soeben besprochenen Pflanzen schließt sich

Salvia patens

an. Der Versuch dauerte vom 21. Februar 1913 bis 29. April. Die Pflanzen wurden aus Wurzelstöcken gezogen. Die Blätter sind lang gestielt, eiförmig, am Rande fein gekerbt. Ihre Entwicklung erfolgt basalwärts. Im Dunkeln erreichen die Blätter eine Länge von höchstens 4 mm und eine Breite von höchstens 2,5 mm. Die Ränder der Blätter sind hier etwas nach oben gebogen.

Am Ende des Versuches zeigten sich folgende Größen:

Tabelle VII.

Blatt von Salvia patens.

Alle Maßangaben in Millimetern; die Angaben für die am Licht befindlichen Exemplare sind fettgedruckt. Beginn des Versuches am 21. Februar 1913. Die Wurzelstöcke wurden in 6 Töpfe gepflanzt. Davon ist

	Nr. 0 normal. Vergl.-Expl.	Nr. 1 15 Tage im Dunkeln gewesen	Nr. 2 26 Tage im Dunkeln gewesen	Nr. 3 39 Tage im Dunkeln gewesen	Nr. 4 48 Tage im Dunkeln gewesen	Nr. 5 67 Tage i. Dunkeln
Nach 67 Tagen, am 29. IV., ist die Länge d. Stieles	**26**	**19** hatte das Wachstum noch nicht eingestellt	**16** hatte das Wachstum eingestellt	**12** hatte das Wachstum eingestellt	**8** hatte das Wachstum eingestellt	5
die Länge der Spreite	**37**	**27**	**18**	**9**	**6**	4
die Breite der Spreite	**23**	**17**	**22**	**6,5**	**5**	2,5

Das Verhältnis von Länge zu Breite ist demnach

Nr. 0	Nr. 1	Nr. 2	Nr. 3	Nr. 4	Nr. 5
1,609 : 1,	1,588 : 1,	1,5 : 1,	1,384 : 1,	1,2 : 1,	1,6 : 1 (etioliert)

Die etioliert gewesenen Blätter ergeben also wiederum relativ größere Breite.

Die älteren etiolierten Blätter vermochten am Licht weder zu ergrünen, noch weiter zu wachsen. Sie starben nach etwa 8 Tagen ab.

Der Blattstiel erreicht im Dunkeln und auch späterhin nicht die normale Größe. Anders ist das bei

Mirabilis Jalapa.

Die Blätter sind spitz, herzförmig, ganzrandig und entwickeln sich basipetal. Der Versuch dauerte vom 19. April 1913 bis 15. Juni. Die Pflanzen wurden aus Knollen gezogen.

Die endgültigen Größen entsprechender Blätter betrugen

Tabelle VIII.

Blatt von Mirabilis Jalapa.

Alle Maßangaben in Millimetern; die Angaben für die am Licht befindlichen Exemplare sind fettgedruckt. Beginn des Versuches am 19. April 1913. Die Knollen wurden in Töpfe gepflanzt. Davon ist

	Nr. 0 normal. Vergl.-Expl.	Nr. 1 36 Tage im Dunkeln gewesen	Nr. 2 47 Tage im Dunkeln gewesen	Nr. 3 57 Tage im Dunkeln
Nach 57 Tagen, am 15. VI., ist die Länge des Stieles	20	20 hatte das	11 hatte das	6 hat das
die Länge der Spreite . .	71	32 Wachstum	25 Wachstum	13 Wachstum
die Breite der Spreite . .	41	27 eingestellt	23 eingestellt	7 eingestellt

Als Verhältnis von Länge zu Breite ergibt sich demnach

Nr. 0 Nr. 1 Nr. 2 Nr. 3

1,732 : 1, 1,185 : 1, 1,086 : 1, 1,857 : 1 (etioliert).

Hier ist also auch wieder relativ größere Breite der etioliert gewesenen Blätter zu verzeichnen. (Vgl. Fig. 21—24, siehe S. 365).

Die Blätter unter Nr. 1 und Nr. 2 hatten, bevor sie ans Licht kamen, das Wachstum bereits eingestellt. Ihre Größe entsprach der unter Nr. 3. Die Ränder der etiolierten Blätter waren nach oben gebogen, bildeten später aber am Licht mit der gesamten Blattfläche eine Ebene.

Die älteren etiolierten Blätter fielen, ohne ergrünt oder weiter gewachsen zu sein, einige Tage nach dem Beleuchtungswechsel ab. Der Blattstiel, der im Dunkeln kleiner bleibt, hat hier bei Nr. 1 am Licht noch die normale Größe erreichen können.

Von den bisher besprochenen Pflanzen weicht

Beta vulgaris

wesentlich ab. Die Rüben wurden am 17. Februar 1913 in Töpfe gepflanzt. Sie treiben bekanntlich vor dem Blütenschaft eine ganze

Fig. 21. Fig. 22. Fig. 23. Fig. 24.

Fig. 21: Normales Blatt von Mirabilis Jalapa.
„ 22: Blatt einer Pflanze, die 36 Tage im Dunkeln und dann am Licht war.
„ 23: „ „ „ „ 47 „ „ „ „ „ „ „ „
„ 24: etioliertes Blatt.

Anzahl grundständiger, rosettenartig angeordneter Blätter, die „lang gestielt, eiförmig, stumpf, am Grunde etwas herzförmig, am Rande meist wellig“ sind. Die Blattspreite zieht sich jedoch in Form von Flügeln noch lang am Stiel herunter und geht so erst allmählich in ihn über. Die Blätter entwickeln sich basipetal.

Bekanntlich bildet Beta vulgaris hinsichtlich der Erscheinungen des Etiolements eine Ausnahme. Die Blätter erreichen im Dunkeln eine ziemlich beträchtliche Größe, die mitunter der normalen verhältnißmäßig nahekommt. Die folgende Tabelle veranschaulicht das Verhalten der Blätter beim angestellten Versuche.

Tabelle IX.

Grundständiges Blatt von Beta vulgaris.

Alle Maßangaben in Millimetern; die Angaben für die am Licht befindlichen Exemplare sind fettgedruckt. Beginn des Versuches am 27. Februar 1913. Die Rüben wurden in 4 Töpfen gepflanzt. Davon ist

	Nr. 0 normal. Vergl.-Expl.	Nr. 1 bleibt 23 Tage im Dunkeln	Nr. 2 bleibt 27 Tage im Dunkeln	Nr. 3 bleibt 60 Tage im Dunkeln
Nach 23 Tagen, am 22. III., ist die Länge der Spreite . . .	**94,5**	77 hat das Wachstum noch nicht eingestellt, kommt jetzt ans Licht		
die Breite der Spreite	**45**	26		

	Nr. 0 normal. Vergl.-Expl.	Nr. 1 bleibt 23 Tage im Dunkeln	Nr. 2 bleibt 27 Tage im Dunkeln	Nr. 3 bleibt 60 Tage im Dunkeln
Nach 27 Tagen, am 26. III., ist die Länge der Spreite . . .	103	81 vollkommen ergrünt	91 hat das Wachstum eingestellt, kommt jetzt ans Licht	
die Breite der Spreite	51	26	39	
Nach 60 Tagen, am 28. IV., ist die Länge der Spreite . . .	108	87	98 vollkommen ergrünt, aber nicht gleichmäßig	90 hat das Wachstum eingestellt
die Breite der Spreite	63	28	42	42

Beta vulgaris schließt sich demnach den vorher besprochenen Pflanzen nicht an. Denn die Blattspreite der etiolierten Blätter ist und bleibt auch am Licht bedeutend schmaler.

Wie oben erwähnt, geht die Blattspreite nur allmählich in den ziemlich breiten Stiel über. Faßt man nun einmal Spreite und Stiel als ein Ganzes auf, so beobachtet man ein Verhalten, wie wir es noch später für die parallel-nervigen Blätter der Monokotyledonen kennen lernen werden. Das Gesamtblatt zeigt im Dunkeln nämlich ein weit rascheres Längenwachstum und übertrifft so schließlich das normale Blatt in der Länge ganz gewaltig, während die Breite weit zurückbleibt. Die Gesamtlängen der Blätter waren folgende:

Tabelle X.

Grundständiges Blatt von Beta vulgaris.

Alle Maßangaben in Millimetern; die Angaben für die am Licht befindlichen Exemplare sind fettgedruckt. Beginn des Versuches am 27. Februar 1913. Die Rüben wurden in 4 Töpfe gepflanzt. Davon ist

	Nr. 0 normal. Vergl.-Expl.	Nr. 1 bleibt 23 Tage im Dunkeln	Nr. 2 bleibt 27 Tage im Dunkeln	Nr. 3 bleibt 60 Tage im Dunkeln
Nach 23 Tagen, am 22. III., ist die Länge des Gesamtblattes .	153	175 kommt jetzt ans Licht		
Nach 27 Tagen, am 26. III., ist die Länge des Gesamtblattes .	179	181 vollkommen ergrünt	219 kommt jetzt ans Licht	
Nach 60 Tagen, am 28. IV., ist die Länge des Gesamtblattes .	236	190	245 vollkommen ergrünt, aber nicht gleichmäßig	283

Die Tabelle zeigt auch, daß das Wachstum der etiolierten Blätter, sobald sie ans Licht gebracht werden, bedeutend langsamer wird, ja sogar bedeutend langsamer als das der normalen.

Übrigens stellt auch Carl Kraus hinsichtlich der Wachstumsverhältnisse von Blättern und Internodien die Rüben mit den Monokotylen zusammen[1]).

Die Ränder der älteren etiolierten Blätter waren oft nach unten zurückgebogen und blieben es später auch am Licht. Diese Blätter ergrünten auch nicht gleichmäßig, sondern zeigten ein gefleckes Aussehen. Hell- und dunkelgrüne Flecken wechselten regellos miteinander ab.

Schließlich sei hier noch in aller Kürze zweier Versuche gedacht, die infolge des geringen Gehalts an Reservestoffen im Samen ergebnislos verliefen: mit Brassica Napus und Sinapis alba. Beide Pflanzen entwickeln nämlich im Dunkeln außer den Kotyledonen überhaupt keine Blätter mehr, und schon die Kotyledonen erreichen im Dunkeln nicht die normale Größe. Werden die Pflanzen dann ans Licht gebracht, so ergrünen die Keimblätter und wachsen noch ein wenig. Nach längerem Etiolement jedoch halten sie sich bis zu 11 Tagen unverändert, lebend am Licht. Dann beginnen sie abzusterben.

Die Blätter der bisher besprochenen Pflanzen, mit Ausnahme von Beta vulgaris, haben das gemeinsam, daß sie alle einfache Blätter sind, daß sie, wie wohl die meisten einfachen Blätter[2]), basipetale Entwicklung zeigen, und schließlich, daß die etioliert gewesenen am Ende des Versuches relativ größere Breite als die normalen aufwiesen.

Aus der Beschreibung der Versuche geht hervor, daß die etiolierten Blätter in dem Augenblick, in dem die Pflanzen ans Licht gebracht wurden, entweder im Dunkeln noch nicht aufgehört hatten zu wachsen, oder aber ihr Wachstum schon eingestellt hatten. Die ersteren nähern sich schließlich am Licht hinsichtlich Form und Größe den normalen am meisten, wenn sie auch in den beschriebenen Fällen niemals ganz die normale Ausdehnung erreichten. Die letzteren hingegen sind es, die am Licht die abnormalen Formen ergeben, d. h. die in ihrer Spreite absolut oder relativ größere Breite als Länge erzielen. Die Tatsache, daß diese Blätter am Licht überhaupt noch derartige Veränderungen aufweisen, liefert uns aber bereits ein wichtiges Ergebnis:

> Das Sonnenlicht vermag Blätter, die im Dunkeln ihr Wachstum bereits eingestellt haben, von neuem zum Wachsen anzuregen.

Aus den Versuchen geht aber weiter hervor, daß auch die Blätter, die im Dunkeln ihr Wachstum schon eingestellt haben, sich nicht ganz gleich verhalten. Bei Phaseolus multiflorus zeigt z. B. das

---

[1]) Carl Kraus, Pflanzenphysiologische Untersuchungen. Flora 1875. S. 346.
[2]) Sonntag, a. a. O. S. 246.

Primärblatt einer Pflanze, die neun Tage im Dunkeln geblieben war, am Ende des Versuches nur relativ größere Breite als Länge, während das einer anderen Pflanze, die 13 Tage im Dunkeln geweilt hatte, absolut größere Breite aufweist. Genau so ist es mit den Fiederblättchen von Phaseolus multiflorus. Bei den anderen Pflanzen schwankt die vorhandene, relativ oder absolut größere Breite, und zwar so, daß stets die Blätter, die einem längeren Etiolement unterworfen waren, auch die größere Breite besitzen. Weiterhin kamen auch solche Blätter vor, die am Licht überhaupt nicht weiter wuchsen, z. T. jedoch ergrünten, während die anderen sich längere Zeit — bis 18 Tage — unverändert, also ohne zu ergrünen, lebend am Licht erhielten und dann langsam abstarben[1]).

Die Blätter zeigen, wie bereits erwähnt, alle basipetale Entwicklung, d. h. sie wachsen anfangs in ihrer ganzen Ausdehnung, hören jedoch bald an der Spitze zu wachsen auf, und von der Spitze setzt sich dann das Einstellen des Wachstums nach und nach bis zu der der Blattbasis genähert liegenden interkalaren Wachstumszone fort. Hier, wo das Wachstum am stärksten ist, hält es auch am längsten an. Bringt man an einem solchen Blatt frühzeitig längs der Mittelrippe Tuschemarken in gleichen Abständen an, so rücken diese also an der Basis am weitesten auseinander, während sie an der Spitze sich nur sehr wenig voneinander entfernen, oder aber, wenn die Spitze schon ausgewachsen ist, in der gleichen Entfernung bleiben. (Vgl. Fig. 25.)

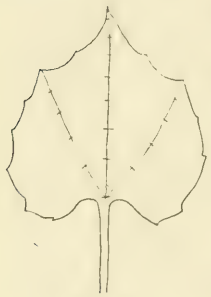


Fig. 25.

Genau so, wie nun im normalen Blatt die Wachstumsfähigkeit der einzelnen Zonen erlischt, geht sie auch bei dem etiolierten Blatt verloren. Wir haben aber oben gesehen, daß ein etioliertes Blatt, das in seiner ganzen Ausdehnung das Wachstum eingestellt hat, durch das Licht wieder zum Wachsen angeregt werden kann. Es werden nun die Zonen, die zuletzt das Wachstum eingestellt haben, am ehesten und besten befähigt sein, es wieder aufzunehmen. Nach der Spitze des Blattes hin wird diese Fähigkeit abnehmen, so daß also die Spitze selbst auch relativ am wenigsten wieder wachsen wird. Verharrt das Blatt noch längere Zeit im Dunkeln, nachdem es schon sein Wachstum eingestellt hat, so geht ihm aber allmählich auch die Fähigkeit verloren, am Licht das Wachstum wieder aufzunehmen; das geschieht dann wieder von der Spitze nach der Basis zu.

---

[1]) Daß diese Blätter noch lebend waren, wurde durch Plasmolyse mit 5prozentigem Kalisalpeter festgestellt.

Kommt nun ein etioliertes Blatt ins Licht in dem Augenblick, wo die Spitze und die nächstfolgenden Zonen bis etwa zur Mitte oder noch darüber hinaus die Fähigkeit, das Wachstum wieder aufzunehmen, verloren haben, so findet nur an der Basis Wachstum statt. Es sind dann gewissermaßen zwei feste Zonen vorhanden, die eine an der Spitze des Blattes, die andere an der Ansatzstelle am Stiele. Zwischen beide schiebt nun die interkalare Wachstumszone neue Zellreihen mit Gewalt ein oder ihre Zellen strecken sich und führen so eine Vergrößerung herbei. Das Blatt wächst also sozusagen mehr nach dem Blattstiele hin. Es ist klar, daß sich daraus schließlich eine abnormale Form des ganzen Gebildes ergeben muß. Die Ränder des Blattes werden nach außen gedrängt, der Winkel, den die Ränder an der Spitze bilden, wird abgestumpft, das ganze Blatt erhält eine relativ breitere Form. Je mehr die Länge der Wachstumszone gegenüber ihrer Breite zurückbleibt, um so mehr werden die Ränder des Blattes vorgewölbt, um so stumpfer wird der Winkel, um so breiter die Form des ganzen Blattes.

Wir können die Wirkung der interkalaren Wachstumszone etwa mit einem Keil vergleichen, den wir in irgend einen Gegenstand, etwa in einen Würfel, eintreiben. (Vgl. Fig. 26 u. 27.) Die Ränder des Würfels werden durch die Wirkung des Keiles nach außen vorgewölbt. Der rechte Winkel, den die einzelnen Kanten miteinander bilden, wird abgestumpft. Je stärker der Keil, desto mehr werden die Ränder vorgewölbt, desto stumpfer wird der von den Kanten gebildete Winkel.

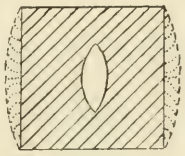


Fig. 26.

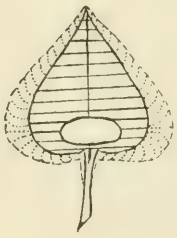


Fig. 27.

Zweifellos spielt sich der ganze Prozeß, wie er hier durch den Versuch hervorgerufen worden ist, in ähnlicher Weise auch oft in der freien Natur ab. Durch den Laubfall oder durch Überwerfen von Erde und irgendwelche andere Dinge oder durch das Umackern der Felder gelangen oft Samen in ziemliche Tiefe. Die Keimpflanze muß dann erst die ganze Erdschicht durchdringen, ehe sie normal weiterwachsen kann. Die so unter der Erde bereits entwickelten Blätter, seien es Kotyledonen oder Primärblätter, gleichen im großen und ganzen den etiolierten. Verweilen sie nun längere Zeit unter Lichtabschluß, so hören sie schließlich, genau wie die etiolierten, zu wachsen auf. Später jedoch, wenn sie endlich infolge des Längenwachstums des Stengels über die Erdoberfläche kommen, werden sie auch das Wachstum wieder aufnehmen.

Wie die einfachen Blätter verhalten sich im Prinzip auch die zusammengesetzten Blätter. Auch hier ergeben sich durch die Versuchsanordnung Formänderungen, die sich durch das Wachstum und die Entwicklung der Blätter erklären lassen.

Zusammengesetzte Blätter mit basipetaler Entwicklung.

Wegen des großen Reichtums der Knollen an Reservestoffen eignet sich für den Versuch besonders gut

Solanum tuberosum.

Die Knollen wurden im April 1912 in Töpfe gepflanzt. Am 14. Mai kamen die Keime durch die Erde. Am gleichen Tage wurden die Töpfe bis auf das Vergleichsexemplar ins Dunkle gebracht. Der erste Topf wurde am 4. Juni ans Licht zurückgesetzt. Der ganze Versuch wurde beendet am 8. August.

Die ersten 2 oder 3 Blätter von Solanum tuberosum sind gewöhnlich einfach, die anderen jedoch alle gefiedert, und zwar unterbrochen gefiedert, d. h. zwischen den großen Seitenfiedern finden sich noch kleine. Die Fiedern werden in basipetaler Folge angelegt. Für die Entstehung der kleinen Fiedern gibt Sonntag[1]) an: „Zu beiden Seiten der basalen embryonalen Partie des Blattes treten die Anlagen der Fiedern in basipetaler Ordnung auf, und nachdem diese eine gewisse Größe erlangt haben und ihre Ansatzstellen an der Blattmittelrippe ein wenig auseinandergerückt sind, entstehen in diesen kleinen Zwischenräumen je zweier Fiedern neue Höcker embryonalen Gewebes, welche zu den kleineren Fiedern werden."

Im Dunkeln werden gewöhnlich ein paar Blätter mehr als einfache angelegt; doch schwankt deren Zahl. Bei den anderen Blättern wird nur die Endfieder verhältnismäßig gut entwickelt, während die Seitenfiedern rudimentär bleiben. Die Endfieder behält nun auch die Fähigkeit, das Wachstum wieder aufzunehmen, länger bei als die rudimentären Seitenfiedern. Daraus erklären sich denn auch die durch den Versuch erzielten Blattformen. Denn man erhält nicht etwa, wie man wegen der basipetalen Entwicklung des Blattes zunächst erwarten sollte, Formen, bei denen die Endfieder am wenigsten, die der Basis naheliegenden Seitenfiedern am meisten entwickelt sind, sondern die Endfieder zeigt vielmehr die stärkste Entwicklung, während die Seitenfiedern nur mangelhaft ausgebildet sind. Fig. 28—31 zeigen die erzielten Formen. Fig. 28 stellt das 11. Blatt des Vergleichsexemplars, Fig. 29—31 die entsprechenden Blätter etioliert gewesener Pflanzen dar. Die Gesamtlänge eines etiolierten Blattes, das im Dunkeln nicht

[1]) Sonntag, a. a. O. S. 247.

mehr wuchs, betrug 17 mm. Am Ende des Versuches waren die Größenverhältnisse folgende:

Tabelle XI.

11. Blatt von Solanum tuberosum.

Alle Maßangaben in Millimetern; die Angaben für die am Licht befindlichen Exemplare fettgedruckt. Beginn des Versuches am 24. Mai 1912. Die Knollen wurden in 5 Töpfe gepflanzt. Davon ist

	Nr. 0 normal. Vergl.-Expl.	Nr. 1 20 Tage im Dunkeln gewesen	Nr. 2 23 Tage im Dunkeln gewesen	Nr. 3 31 Tage im Dunkeln gewesen	Nr. 4 49 Tage im Dunkeln
Nach 49 Tagen, am 2. VII, ist die Gesamtlänge d. Blattes	**88**	**78** hatte das Wachstum noch nicht eingestellt	**75** hatte das Wachstum eingestellt	**54** hatte das Wachstum eingestellt	17 hat das Wachstum eingestellt
die Länge der Endfieder	**32**	**34**	**28**	**30**	10
die Breite der Endfieder	**23**	**30**	**26**	**32**	7

Fig. 28.

Fig. 29.

Fig. 30.

Fig. 31.

Fig. 28: Normales Blatt von Solanum tuberosum.
„ 29: Blatt einer Pflanze, die 20 Tage im Dunkeln und dann am Licht war.
„ 30: „ „ „ „ 23 „ „ „ „ „ „ „ „
„ 31: „ „ „ „ 31 „ „ „ „ „ „ „ „

Die Endfieder, die sich ihrerseits auch wieder basipetal entwickelt, zeigt natürlich hier dieselbe Erscheinung, wie sie bei den einfachen Blättern beobachtet wurde, d. h. sie erreicht relativ größere Breite.

Die älteren Blätter der etioliert gewesenen Pflanzen waren am Ende des Versuches fast alle abgestorben. Sie waren zum Teil noch ergrünt, aber nicht weiter gewachsen, zum größeren Teile jedoch hatten sie sich schon einige Tage nach dem Beleuchtungswechsel gebräunt und waren schließlich abgefallen.

Das ganze Verhalten, wie es an entsprechenden Blättern verschiedener Exemplare von Solanum tuberosum beobachtet wurde, zeigte

sich hier auch ziemlich deutlich an den aufeinanderfolgenden Blättern einer einzigen Pflanze. Fig. 32—34 zeigen drei aufeinander folgende

Fig. 32. Fig. 33. Fig. 34.

Fig. 32—34: 3 aufeinanderfolgende Blätter einer Pflanze von Solanum tuberosum, die 31 Tage im Dunkeln und dann am Licht war.

Blätter eines Exemplares, das 31 Tage im Dunkeln gestanden hatte und dann ans Licht gebracht worden war. Das erste Blatt war als das älteste dem Etiolement natürlich am längsten unterworfen. Es hatte denn auch die von der normalen am meisten abweichende und zugleich die einfachste Gestalt. Das dritte Blatt ist wohl schon als vollkommen normal zu bezeichnen. Es ist am höchsten differenziert. Das zweite Blatt nimmt zwischen beiden eine Mittelstellung ein.

Zur Kontrolle der hier gewonnenen Resultate stellte ich noch einen Versuch mit

Solanum tuberosum

an. Der Versuch wurde diesmal mit einer sehr kleinblätterigen Kartoffelsorte ausgeführt. Er dauerte vom 17. Februar 1913 bis 27. Mai. Das Ergebnis war das gleiche wie im vorhergehenden Versuche. Je länger die Pflanze dem Etiolement unterworfen worden war, desto einfacher war die sich schließlich ergebende Blattform. Dabei war wieder die Endfieder im Wachstum bevorzugt, während die Seitenfiedern sehr zurückblieben.

Schließlich benutzte ich noch eine Solanacee, nämlich

Solanum Comersonii.

Die Blätter von Solanum Comersonii sind in ihrer Gestalt und Entwicklung denen von Solanum tuberosum gleich. So war auch das Ergebnis des Versuches, der sich vom 23. Februar 1913 bis 27. Mai ausdehnte, völlig dasselbe.

Ganz anders liegen die Verhältnisse bei

Oxalis Deppei.

Ich rechne Oxalis Deppei auch zu den Pflanzen, die Blätter mit basipetaler Entwicklung haben. Aus den Zwiebeln treiben die langen Blattstiele hervor, die an ihrem Ende die aus vier Teilblättchen bestehenden Blätter tragen. Diese vier Teilblättchen sind um je 90° in ihrer Ansatzstelle voneinander entfernt. Sie sind herzförmig. In jugendlichem Zustand sind die Teilblättchen alle mit ihren beiden Hälften nach oben zusammengeklappt, und zwar sind sie dann so gestellt, daß das eine ganz zwischen den zusammengeklappten Blatthälften des ihm gegenüberliegenden Blattes steckt, während die beiden anderen sich seitlich daran anlegen. Das Blättchen nun, das mit seinen Rändern das gegenüberliegende umschließt, ist das älteste und größte, das ihm opponierte hingegen das jüngste und kleinste; die beiden anderen halten die Mitte. Wenn ich nun die Entwicklung des gesamten Blattes als basipetal annehme, so muß ich es natürlich immer so orientiert denken, daß das größte und älteste Teilblättchen stets oben ist. Eichler bezeichnet die Entwicklung dieser Blätter als zyklisch mit basipetalem Charakter[1]).

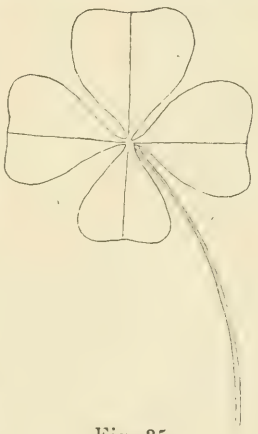


Fig. 35.

Im Dunkeln bleiben die Teilblättchen klein und ganz zusammengefaltet. Der Blattstiel erreicht ganz beträchtliche Länge[2]).

In der folgenden Tabelle, die das Verhalten der Blätter bei dem Versuche veranschaulichen soll, sind nun die Größen der einzelnen Teilblättchen so gestellt, daß man daran zugleich die Stellung des Blättchens sieht; d. h. also: oben stehen Länge und Breite — die obere Zahl bedeutet die Länge, die untere die Breite — des ältesten Teilblättchens. Etwas weiter unten, doch seitlich davon, stehen die Maße für die nächsten zwei gleichalterigen Blättchen, und ganz unten, wieder in der Mitte, folgen die Größen des jüngsten Blättchens. (Vgl. Fig. 35.)

Tabelle XII.

Blatt von Oxalis Deppei.

Alle Maßangaben in Millimetern; die Angaben für die am Licht befindlichen Exemplare sind fettgedruckt. Beginn des Versuches am 13. März 1913. Die Zwiebeln wurden in 6 Töpfe gepflanzt. Davon ist

---

[1]) Eichler, Zur Entwicklungsgeschichte des Blattes mit besond. Berücksichtigung der Nebenblattbildungen. Inaug.-Dissert. Marburg 1861, S. 206.

[2]) Jost, a. a. O. S. 368.

		Nr. 0 normal. Vergl.-Expl.	Nr. 1 bleibt 28 Tage im Dunkeln	Nr. 2 bleibt 43 Tage im Dunkeln	Nr. 3 bleibt 47 Tage im Dunkeln	Nr. 4 bleibt 63 Tage im Dunkeln	Nr. 5 bleibt 94 Tage im Dunk.
Nach 28 Tagen, am 10. IV., ist	die Länge d. 1. Fieder . .	7	5				
	die Breite d. 1. Fieder . .	6	4				
	die Länge d. 2. u. 3. Fieder	6 6	4 4				
	die Breite d. 2. u. 3. Fieder	6 6	4 4				
	die Länge d. 4. Fieder . .	5	3,5				
	die Breite d. 4. Fieder . .	5	3,5				
			hat das Wachstum noch nicht eingestellt, kommt jetzt ans Licht				
Nach 43 Tagen, am 25. IV., ist	die Länge d. 1. Fieder . .	14	13	5,5			
	die Breite d. 1. Fieder . .	13	12	5,5			
	die Länge d. 2. u. 3. Fieder	13 13	12 12	5 5			
	die Breite d. 2. u. 3. Fieder	12 12	11 11	5 5			
	die Länge d. 4. Fieder . .	11	10	4			
	die Breite d. 4. Fieder . .	11	11	4			
			voll-kommen ergrünt	hat das Wachstum eingestellt, kommt jetzt ans Licht			
Nach 47 Tagen, am 29. IV., ist	die Länge d. 1. Fieder . .	23	17	11	7		
	die Breite d. 1. Fieder . .	21	19	12	7		
	die Länge d. 2. u. 3. Fieder	20 20	17 17	10 10	6 6		
	die Breite d. 2. u. 3. Fieder	19 19	18 18	10 10	6 6		
	die Länge d. 4. Fieder . .	18	14	8	5		
	die Breite d. 4. Fieder . .	18	15	8	5		
				voll-kommen ergrünt	hat das Wachstum eingestellt, kommt jetzt ans Licht		
Nach 63 Tagen, am 15. V., ist	die Länge d. 1. Fieder . .	30	27	21	21	7	
	die Breite d. 1. Fieder . .	28	32	26	27	6,5	
	die Länge d. 2. u. 3. Fieder	27 27	25 25	20 20	22 22	6 6	
	die Breite d. 2. u. 3. Fieder	23 23	27 27	22 22	26 26	5,5 5,5	
	die Länge d. 4. Fieder . .	22	21	17	18	5	
	die Breite d. 4. Fieder . .	22	21	20	22	5	
					voll-kommen ergrünt	hat das Wachstum eingestellt, kommt jetzt ans Licht	
Nach 94 Tagen, am 15. VI., ist	die Länge d. 1. Fieder . .	30	27	21	21	15	7
	die Breite d. 1. Fieder . .	28	32	26	27	12	6,5
	die Länge d. 2. u. 3. Fieder	27 27	25 25	20 20	22 22	18 18	6 6
	die Breite d. 2. u. 3. Fieder	23 23	27 27	22 22	26 26	21 21	5,5 5,5
	die Länge d. 4. Fieder . .	22	21	17	18	18	5
	die Breite d. 4. Fieder . .	22	21	20	22	22	5
						voll-kommen ergrünt	

Aus der Tabelle geht deutlich hervor, daß das älteste Teilblättchen um so mehr in seiner Entwicklung den anderen gegenüber zurückbleibt, je länger das Etiolement dauert. Am 15. Mai ist bei dem Blatt von Exemplar 3 das älteste Teilblättchen von den beiden seitlich stehenden, nächst jüngeren bereits in seiner Größe eingeholt worden, am 30. Mai bei dem Blatt von Nr. 4 nicht nur von diesen, sondern auch von dem ihm gegenüberstehenden jüngsten Blättchen weit übertroffen. Der in der Entwicklung erste und älteste Teil des Blattes ist also am wenigsten befähigt, nach dem Etiolement nachträglich noch seine normale Form auszubilden. (Vgl. Fig. 36—40.)

Fig. 36. Fig. 37. Fig. 38. Fig. 39. Fig. 40.

Fig. 36: Normales Blatt von Oxalis Deppei.
„ 37: Blatt einer Pflanze, die 28 Tage im Dunkeln und dann am Licht war.
„ 38: „ „ „ „ 43 „ „ „ „ „ „ „ „
„ 39: „ „ „ „ 47 „ „ „ „ „ „ „ „
„ 40: „ „ „ „ 63 „ „ „ „ „ „ „ „

An den Blättern von Pflanzen, die nach dem 15. Mai noch ans Licht gebracht worden waren, konnte keine Wiederaufnahme des Wachstums beobachtet werden. Einige Blätter vermochten noch leicht zu ergrünen, ohne aber dabei zur Entfaltung zu kommen, andere vermochten auch das nicht einmal. Sie gingen nach ungefähr 14 Tagen zugrunde.

Der Blattstiel, der, wie oben bereits erwähnt, im Dunkeln übermäßig lang wird, wächst auch später am Licht noch weiter, wie folgende Tabelle zeigt.

Tabelle XIII.

Blattstiel von Oxalis Deppei.

Alle Maßangaben in Millimetern; die Angaben für die am Licht befindlichen Exemplare sind fettgedruckt. Beginn des Versuches am 13. März 1913. Die Zwiebeln wurden in 5 Töpfe gepflanzt. Davon ist

	Nr. 0 normal. Vergl.-Expl.	Nr. 1 bleibt 28 Tage im Dunkeln	Nr. 2 bleibt 43 Tage im Dunkeln	Nr. 3 bleibt 47 Tage im Dunkeln	Nr. 4 bleibt 63 Tage i. Dunkeln
Nach 28 Tagen, am 10. IV., ist die Länge des Blattstieles . . .	**30**	170) kommt jetzt ans Licht			
Nach 43 Tagen, am 25. IV., ist die Länge des Blattstieles . . .	**50**	**200**	176) kommt jetzt ans Licht		
Nach 47 Tagen, am 29. IV., ist die Länge des Blattstieles . . .	**80**	**272**	**195**	311) kommt jetzt ans Licht	
Nach 63 Tagen, am 15. V., ist die Länge des Blattstieles . . .	**176**	**319**	**318**	**431**	437

Zusammengesetzte Blätter mit akropetaler Entwicklung.

Zu diesen Versuchen wurden nur Papilionaceen verwendet. Als erste sei angeführt

Ervum Lens.

Der Versuch begann mit der Keimung der Samen am 14. August 1912. Er wurde abgeschlossen am 29. August.

Die ersten zwei Blätter, die sogenannten Primärblätter, sind einfache, dreizipfelige, mehr schuppenartige Blätter. Man deutet den mittleren Zipfel als die Blattspreite, die seitlichen als die Nebenblätter[1]). Die Länge der einzelnen Zipfel gibt Tabelle XIV an.

Tabelle XIV.

Primärblätter von Ervum Lens.

Alle Maßangaben in Millimetern; die Angaben für die am Licht befindlichen Exemplare sind fettgedruckt. Beginn des Versuches am 14. August 1912. Die Linsen wurden in 3 Töpfe gepflanzt. Davon ist

	Nr. 0 normales Vergl.-Expl.	Nr. 1 8 Tage im Dunkeln gewesen	Nr. 2 11 Tage im Dunkeln
Nach 11 Tagen, am 25. VIII., ist die Länge des Mittelzipfels	**4**	**3,5**	3,5
die Länge des rechten Seitenzipfels	**3**	**2,5**	2
die Länge des linken Seitenzipfels	**3**	**2,5**	2

[1]) Goebel, Organographie der Pflanzen. 1893. S. 135.

Das dritte Blatt von Ervum Lens ist das erste gefiederte. Es ist in zwei Nebenblätter, den Blattstiel, zwei Seitenfiedern und eine einfache Ranke gegliedert. Die Entwicklung erfolgt wie bei allen derartigen und ähnlichen Leguminosenblättern akropetal[1]). Die folgende Tabelle zeigt das Verhalten des ersten Fiederblattes beim Versuch.

Tabelle XV.

Erstes Fiederblatt von Ervum Lens.

Alle Maßangaben in Millimetern; die Angaben für die am Licht befindlichen Exemplare sind fettgedruckt. Beginn des Versuchs am 14. VIII. 1912. Die Linsen wurden in 4 Töpfe gepflanzt. Davon ist

	Nr. 0 normal. Vergl.-Expl.	Nr. 1 bleibt 8 Tage im Dunkeln	Nr. 2 bleibt 11 Tage im Dunkeln	Nr. 3 bleibt 15 Tage im Dunkeln
Nach 8 Tagen, am 22. VIII., ist die Länge der Nebenblätter	**3**	2 hat das Wachstum noch nicht ganz eingestellt, kommt jetzt ans Licht		
die Breite der Nebenblätter	**1**	1		
die Länge des Stieles . . .	**5**	2		
die Länge der Fiedern . .	**9,5**	5,5		
die Breite der Fiedern . .	**6**	3,5		
Nach 11 Tagen, am 25. VIII., ist die Länge der Nebenblätter	**3**	**2** ist vollkommen ergrünt	2 hat in allen Teilen das Wachstum eingestellt, kommt jetzt ans Licht	
die Breite der Nebenblätter	**1**	**1**	1	
die Länge des Stieles . . .	**14**	**8**	3,5	
die Länge der Fiedern . .	**16**	**9**	6,5	
die Breite der Fiedern . .	**7**	**4,5**	3,5	
Nach 15 Tagen, am 29. VIII., ist die Länge der Nebenblätter	**3,5**	**2**	**2** ist vollkommen ergrünt	2 hat in allen Teilen das Wachstum eingestellt
die Breite der Nebenblätter	**1**	**1**	**1**	1
die Länge des Stieles . . .	**15**	**16**	**13**	5
die Länge der Fiedern . .	**17**	**12**	**9**	6,5
die Breite der Fiedern . .	**7**	**6**	**5**	3,5

Die Nebenblätter erreichen also im Dunkeln nahezu normale Größe. Da sie den ältesten Teil des Blattes bilden, stellen sie im Dunkeln auch zuerst das Wachstum ein und verlieren auch zuerst die Fähigkeit, das Wachstum später am Licht wieder aufzunehmen, und zwar scheinen sie diese Fähigkeit ziemlich rasch zu verlieren. Denn es konnte bei dem Versuche in keinem Falle ein Weiterwachsen am Licht beobachtet werden. Sie verhalten sich also anders als die als Nebenblätteräquivalente gedeuteten Seitenzipfel der Primärblätter.

Der Blattstiel erlangt im Dunkeln niemals normale Größe, vermag sie aber nach nur kurzem Etiolement noch zu erzielen.

[1]) Sonntag, a. a. O., S. 251.

Die Fiedern, deren Entwicklung basipetal erfolgt, verhalten sich wie die oben besprochenen einfachen Blätter, d. h. sie weisen am Ende des Versuches relativ größere Breite auf. Das Verhältnis von Länge zu Breite ist

Nr. 0	Nr. 1	Nr. 2	Nr. 3
17 : 7	12 : 6	9 : 5	6,5 : 3,5
2,42 : 1	2 : 1	1,8 : 1	1,86 : 1 (etioliert)

Die Ranke war bei allen Pflanzen, wenn sie überhaupt da war, sehr minimal, so daß ihr Verhalten hier nicht genau beurteilt werden kann.

Wie nun das Verhältnis von Fiederlänge zu Fiederbreite verändert worden ist, so hat der Versuch auch umgestaltend auf das Verhältnis der einzelnen Blatteile zueinander gewirkt. Ich führe hier nur das Verhältnis von Fiederlänge zu Nebenblattlänge und von der Länge der Fiedern zu der des Stieles an.

	Nr. 0	Nr. 1	Nr. 2	Nr. 3
Fiederlänge zu Nebenblattlänge	17 : 3,5 4,86 : 1	12 : 2 6 : 1	9 : 2 4,5 : 1	6,5 : 2 3,25 : 1
Fiederlänge zu Länge des Stieles	17 : 15 1,3 : 1	12 : 16 0,75 : 1	9 : 13 0,69 : 1	6,5 : 5 1,3 : 1

Ganz ähnlich liegen die Verhältnisse bei

Pisum sativum.

Der Versuch dauerte vom 10. Januar 1913 bis 7. Februar. Wenngleich die Pflanzen sich um diese Jahreszeit auch im Gewächshause bei weitem nicht so kräftig entwickeln, wie während des Sommers im Freien, so hat das doch für die Beurteilung meines Versuches weniger Bedeutung, da es sich ja hier immer nur um relative Werte handelt.

Die ersten zwei Blätter von Pisum sativum sind genau wie die von Ervum Lens, also einfach und dreizipfelig. Sie spielen hier ebenso keine große Rolle. Im Dunkeln erreichen sie schon fast vollkommen die normale Größe. Sie verlieren verhältnismäßig früh die Fähigkeit, am Licht zu ergrünen und das Wachstum wieder aufzunehmen, offenbar, eben weil sie schon nahe der Grenze ihrer Wachstumsfähigkeit überhaupt sind. Sie halten sich etwa 8—12 Tage lebend am Licht, ohne jede äußerlich wahrnehmbare Veränderung. Dann vertrocknen sie und sterben ab. Einer Bemerkung von Dubbels[1]), daß „bei etiolierten Pflanzen der mittlere Blattzipfel stärker verkümmere als die seitlichen Blattzipfel", kann ich nicht zustimmen.

Die Fiederblätter sind genau so gestaltet, wie die von Ervum Lens; ihre Entwicklung ist ebenfalls akropetal.

---

[1]) Dubbels, a. a. O. S. 11.

Tabelle XVI.

Erstes Fiederblatt von Pisum sativum.

Alle Maßangaben in Millimetern; die Angaben für die am Licht befindlichen Exemplare sind fettgedruckt. Beginn des Versuches am 10. Januar 1913. Die Erbsen wurden in 4 Töpfe gepflanzt. Davon ist

	Nr. 0 normal. Vergl.-Expl.	Nr. 1 bleibt 10 Tage im Dunkeln	Nr. 2 bleibt 21 Tage im Dunkeln	Nr. 3 bleibt 28 Tage im Dunkeln
Nach 10 Tagen, am 20. I., ist				
die Länge der Nebenblätter	8	5		
die Breite der Nebenblätter	6	4		
die Länge des Stieles . . .	7	5		
die Länge der Fiedern . .	11	5		
die Breite der Fiedern . .	8	4		
die Länge der Ranke . . .	3	2,5		
		hat das Wachstum noch nicht eingestellt, kommt jetzt ans Licht		
Nach 21 Tagen, am 31. I., ist				
die Länge der Nebenblätter	9	5,5	5	
die Breite der Nebenblätter	6	4	4	
die Länge des Stieles . . .	12	10	10	
die Länge der Fiedern . .	13	6,5	6	
die Breite der Fiedern . .	8	4,5	4	
die Länge der Ranke . . .	3,5	2,5		
		ist vollkommen ergrünt	hat das Wachstum in allen Teilen eingestellt, kommt jetzt ans Licht	
Nach 28 Tagen, am 7. II., ist				
die Länge der Nebenblätter	9	6,5	5	5
die Breite der Nebenblätter	6	5	4	4
die Länge des Stieles . . .	16	15	10	13
die Länge der Fiedern . .	14	9	8	6
die Breite der Fiedern . .	8	6	6	4
die Länge der Ranke . . .	4,5	3,5	2,5	5
			ist vollkommen ergrünt	hat das Wachstum in allen Teilen eingestellt

Die Stipulae, die zuerst das Wachstum einstellen, sind nur nach kurzem Etiolement noch fähig, das Wachstum wieder aufzunehmen, freilich auch da nur in sehr beschränktem Maße. Die normale Länge erreichen sie bei weitem nicht, wohl aber nähern sie sich der normalen Breite. Der Blattstiel zeigt dieselbe Erscheinung wie der von Ervum Lens, nur hat er nach langem Etiolement eine ziemlich beträchtliche Länge erreicht, die der des normalen Blattstieles fast gleichkommt.

Für die Fiedern gilt das gleiche wie für die von Ervum Lens.

Über die Ranke läßt sich nichts Sicheres aussagen. Doch ist anzunehmen, daß der unter Nr. 3 erwähnte Fall, wo die Ranke des etiolierten Blattes die des normalen an Länge übertrifft, nur ein Ausnahmefall ist, daß somit im allgemeinen die Ranke die normale Größe im Dunkeln nicht erreicht, und, wie es scheint, auch später am Licht nicht mehr [1]).

[1]) Vgl. Dubbels, a. a. O. S. 60: „Die Ranken erlitten niemals Überverlängerung."

Wie das Verhältnis der einzelnen Blatteile zueinander sich geändert hat, geben folgende Zahlen an.

Tabelle XVII.

Erstes Blatt von Pisum sativum.

Alle Maßangaben in Millimetern; die Angaben für die am Licht befindlichen Exemplare sind fettgedruckt. Beginn des Versuches am 10. Januar 1913. Die Erbsen wurden in 4 Töpfe gepflanzt. Davon ist

	Nr. 0 normales Vergleichs-Exemplar	Nr. 1 10 Tage im Dunkeln gewesen	Nr. 2 21 Tage im Dunkeln gewesen	Nr. 3 28 Tage im Dunkeln
Nach 28 Tagen, am 7. II., ist das Verhältnis von				
Fiederlänge zu Nebenblattlänge	**14 : 9** **1,561 : 1**	**9 : 6,5** **1,384 : 1**	**8 : 5** **1,6 : 1**	6 : 5 1,2 : 1
Fiederlänge zu Länge des Stieles	**14 : 16** **0,875 : 1**	**9 : 15** **0,6 : 1**	**8 : 10** **0,125 : 1**	6 : 13 0,462 : 1
Fiederlänge zu Fiederbreite	**14 : 8** **1,75 : 1**	**9 : 6** **1,5 : 1**	**8 : 6** **1,33 : 1**	6 : 4 1,5 : 1

An Pflanzen, die nach dem 7. Februar noch ans Licht gebracht worden waren, vermochten sowohl die zwei Primärblätter als auch das erste Fiederblatt in seiner Gesamtheit nicht mehr zu ergrünen und natürlich erst recht nicht wieder zu wachsen. Das letztere hielt sich 10—15 Tage noch lebend und begann dann zu vertrocknen.

Schließlich sei hier noch

Lathyrus tingitanus

erwähnt. Bei Lathyrus tingitanus liegen die Verhältnisse ganz ähnlich wie bei den beiden vorher beschriebenen Papilionaceen, nur sind hier statt zwei drei Primärblätter vorhanden. Der Versuch, der vom 17. September 1912 bis 7. November währte, ergab denn auch dasselbe Resultat. Der Kürze halber gebe ich nur die Messungen am Schluß des Versuches an.

Tabelle XVIII.

Erstes Fiederblatt von Lathyrus tingitanus.

Alle Maßangaben in Millimetern; die Angaben für die am Licht befindlichen Exemplare sind fettgedruckt. Beginn des Versuches am 17. September 1912. Die Samen wurden in 4 Töpfe gepflanzt. Davon ist (Tabelle siehe Seite 381).

Es gilt somit für die einzelnen Teile des Fiederblattes genau dasselbe, was von jenen der Blätter von Ervum Lens und Pisum sativum gesagt worden ist. Nur möchte ich hier noch besonders darauf hinweisen, daß die Ranke, die an der normalen Pflanze eine Länge

	Nr. 0 normales Vergleichs-Exemplar	Nr. 1 21 Tage im Dunkeln gewesen	Nr. 2 28 Tage im Dunkeln gewesen	Nr. 3 51 Tage im Dunkeln
Nach 51 Tagen, am 7. XI., ist		hatte	hatte	
die Länge der Nebenblätter	3	2 das	2 das	2
die Breite der Nebenblätter	2	1 Wachs-	1 Wachs-	1
die Länge des Stieles . . .	13	6 tum in	7 tum in	3
die Länge der Fiedern . .	37,5	6 allen	5,5 allen	4
die Breite der Fiedern . .	4	2,5 Teilen	2,5 Teilen	1
die Länge der Ranke . . .	47	5 einge-	8 einge-	1
		stellt	stellt	

von 47 mm erlangt hat, im Dunkeln nur zu sehr geringer Entwicklung gekommen und auch später am Licht nicht mehr fähig gewesen ist, der normalen Länge noch einigermaßen nahezukommen.

Das Verhältnis der einzelnen Blatteile zueinander ist folgendes:

Tabelle XIX.

Erstes Fiederblatt von Lathyrus tingitanus.

Alle Maßangaben in Millimetern; die Angaben für die am Licht befindlichen Exemplare sind fettgedruckt. Beginn des Versuches am 17. September 1912. Die Samen wurden in 4 Töpfe gepflanzt. Davon ist

	Nr. 0 normales Vergleichs-Exemplar	Nr. 1 21 Tage im Dunkeln gewesen	Nr. 2 28 Tage im Dunkeln gewesen	Nr. 3 51 Tage im Dunkeln
Nach 51 Tagen, am 7. XI., ist das Verhältnis				
von Fiederlänge	**37,5 : 3**	**6 : 2**	**5,5 : 2**	4 : 2
zu Nebenblattlänge	**12,5 : 1**	**3 : 1**	**2,75 : 1**	2 : 1
von Fiederlänge	**37,5 : 13**	**6 : 6**	**5,5 : 7**	4 : 3
zur Länge des Stieles	**2,844 : 1**	**1 : 1**	**0,786 : 1**	1,333 : 1
von Fiederlänge	**37,5 : 4**	**6 : 2,5**	**5,5 : 2,5**	4 : 1
zu Fiederbreite	**9,375 : 1**	**2,4 : 1**	**2,2 : 1**	4 : 1

Die Blätter der drei Papilionaceen verhalten sich also vollkommen gleich. Die Nebenblätter stellen zuerst von allen Blatteilen das Wachstum ein; sie verlieren im Dunkeln denn auch zuerst die Fähigkeit, das Wachstum eventuell wieder aufzunehmen. Trotzdem bleiben sie bei dem Versuch jedoch nicht in der Weise in ihrer Entwicklung den anderen Blatteilen gegenüber zurück, wie man vielleicht von vornherein erwarten sollte. Das erklärt sich aber daraus, daß sie im Dunkeln relativ bedeutend größer werden als die anderen Blatteile, vor allem als die Fiedern. Das ergibt sich deutlich, wenn man einmal das Verhältnis bildet zwischen der Länge einer ausgewachsenen normalen

Fieder und der einer im Dunkeln gewachsenen Fieder einerseits und anderseits zwischen den Längen entsprechender Nebenblätter. Man erhält so:

Tabelle XX.

Erstes Fiederblatt von Ervum Lens, Pisum sativum, Lathyrus tingitanus.

Alle Maßangaben in Millimetern.

	Länge der normalen Fieder zu der der etiolierten Fieder	Länge des normalen Nebenblattes zu der des etiolierten Nebenblattes
Ervum Lens	18 : 6,5 2,769 : 1	3,5 : 2 1,75 : 1
Pisum sativum . . .	14 : 7 2 : 1	9 : 5 1,8 : 1
Lathyrus tingitanus .	37,5 : 4 9,375 : 1	3 : 2 1,5 : 1

Dadurch ist es denn auch möglich, daß einzelne Teile eines etioliert gewesenen Blattes in normalem Längenverhältnis zueinander stehen können, wenn auch die absoluten Größen bei weitem nicht den normalen gleichkommen. So ist z. B. das Verhältnis von Fiederlänge zu Nebenblattlänge bei einer normalen Pflanze von Pisum sativum 1,56 : 1 und bei einer etioliert gewesenen Pflanze 1,6 : 1, also fast das gleiche. Die absoluten Größen betragen jedoch 14 : 9 und 8 : 5.

Aus diesen Umständen heraus erklärt es sich denn, daß sich bei diesen Pflanzen nicht so weitgehende und auffallende Unterschiede zwischen den normalen und etioliert gewesenen Blättern ergeben.

Mehr von der normalen Gestalt abweichend waren aber die erzielten Formen der .

Zusammengesetzten Blätter mit ternierender Entwicklung.

Ich bezeichne die Entwicklung der im folgenden besprochenen Blätter nach Eichler als „ternierend". „Es werden von einem Gliede niederer Ordnung nur zwei einander gegenüberliegende Seitenglieder gebildet; das Glied niederer Ordnung zerlegt sich also in drei Glieder höherer Ordnung"[1]. Solche Blätter besitzt

Dicentra spectabilis.

„Die Blattspreite ist doppelt dreizählig; das Endblättchen ist symmetrisch und dreilappig; die Seitenblättchen sind asymmetrisch"[2]. Im Dunkeln bleiben alle Blatteilchen zusammengefaltet.

[1]) Eichler, a. a. O. S. 17.

[2]) Schumann, Praktikum für morphologische und systematische Botanik. Jena 1904. S. 355.

Der Versuch dauerte vom 21. Februar 1913 bis 18. Mai. Die Pflanzen wurden aus Wurzelstöcken gezogen.

Infolge der hochdifferenzierten Blattform war es unmöglich, das Verhalten der Blätter bei dem Versuch durch Messungen genau festzulegen. Ich begnügte mich daher, nur die Entwicklung des Blattes zu verfolgen und bei den etiolierten Blättern, so gut es möglich war, festzustellen, ob alle Teile das Wachstum eingestellt hatten. Ich verweise daher hier besonders auf die Zeichnungen, die das Resultat wiedergeben. Fig. 41 stellt das normale Blatt dar, Fig. 42 und 43 zeigen die durch den Versuch erzielten Formen entsprechender etioliert gewesener Blätter; Fig. 44 gibt ein etioliertes Blatt wieder. Die beiden etioliert gewesenen Blätter hatten, bevor sie ans Licht kamen, das Wachstum bereits eingestellt.

Fig. 41.

Fig. 42.

Fig. 43.

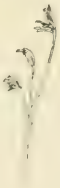


Fig. 44.

Fig. 41: Normales Blatt von Dicentra spectabilis.
„ 42: Blatt einer Pflanze, die 32 Tage im Dunkeln und dann am Licht war.
„ 43: „ „ „ „ 53 „ „ „ „ „ „ „ „
„ 44: Etioliertes Blatt.

Aus der genauen Betrachtung der Abbildung ersieht man, daß die etioliert gewesenen Blätter eine bedeutend vereinfachtere Form aufweisen als das normale. Das Blatt erfährt im Dunkeln noch nicht seine volle Gliederung, und es verliert dann, je länger es im Dunkeln verweilt, in um so höherem Maße die Fähigkeit, nachträglich am Licht noch die vollständige, normale Differenzierung vorzunehmen.

Ganz ähnlich liegen die Verhältnisse bei

Astilbe japonica.

Die Pflanzen wurden aus Wurzelstöcken gezogen. Am 21. Februar 1913 kamen die ersten Triebe ans Licht. Mit diesem Tage begann der Versuch; er erstreckte sich bis zum 28. Mai.

Die Blätter sind dreifach dreizählig, die Ränder der einzelnen Blättchen gesägt. Die Entwicklung ist ternierend.

Fig. 45 und 46 zeigen ein normales und ein etioliert gewesenes Blatt. Es ergibt sich hier ebenfalls, daß das letztere bei weitem nicht die weitgehende Differenzierung des ersteren aufweist.

Fig. 45.

Fig. 46.

Fig. 45: Normales Blatt von Astilbe japonica.
Fig. 46: Blatt einer Pflanze, die 48 Tage im Dunkeln und dann am Licht war.

Schließlich sei hier noch ein Versuch erwähnt, der im Freien angestellt wurde, und zwar mit

Paeonia officinalis.

Über Knospen, die soeben die Erde durchbrachen, wurde am 6. April 1913 ein weites Rohr gestülpt. Der untere Rand wurde durch Aufschütten von Erde gut abgedichtet. Oben wurde das Rohr zunächst durch einen gut passenden Holzdeckel verschlossen und dann mit schwarzer Watte abgedichtet. Über das Ganze wurde schließlich noch starkes, schwarzes Ölpapier gespannt und festgebunden, so daß ein Eindringen des Lichtes unmöglich war. Am 31. Mai wurde der Verschluß der Röhre wieder beseitigt, so daß die Pflanze nunmehr von oben etwas Licht empfing und so in einem halbdunkeln Raume stand. Am 8. Juni gelangte die Pflanze vollkommen ans Licht. Der Versuch wurde abgeschlossen am 20. Juni. Das Vergleichsexemplar wuchs unmittelbar neben der Versuchspflanze.

Die Blätter von Paeonia sind wie die von Dicentra doppelt dreizählig. Ihre Entwicklung ist die gleiche. Im Dunkeln bleiben die einzelnen Teile ganz zusammengefaltet.

Die ältesten Blätter vermochten den Beleuchtungswechsel nicht zu ertragen. Der Stiel wurde an seiner Basis braun und schmierig und führte so schließlich das Absterben des gesamten Blattes herbei. Die anderen Blätter ergrünten langsam, breiteten sich aus und wuchsen weiter. Fig. 47 und 48 (siehe Seite 385) zeigen nebeneinander die normale und die durch den Versuch erzielte Blattform. Man findet

Fig. 47.

Fig. 48.

Fig. 47: Normales Blatt von Paeonia officinalis.
„ 48: Blatt einer Pflanze, die 63 Tage im Dunkeln und dann am Licht war.

das gleiche Ergebnis wie bei den beiden zuvor erwähnten Blättern, nämlich Mangel an Gliederung gegenüber dem normalen Blatt.

Wir kommen nun zu dem Typus der

Monokotyledonen.

Es lassen sich hier zwei Gruppen unterscheiden, Pflanzen mit gestielten, netznervigen Blättern und solche mit ungestielten, parallelnervigen Blättern. Von der ersten Art wurde

Arum italicum

untersucht. Die knolligen Rhizome wurden am 8. Januar 1913 in Töpfe gepflanzt. Sie treiben bekanntlich langgestielte, pfeilförmige Blätter. Die Entwicklung der Blätter erfolgt basipetal. „Sowohl in Hinsicht auf Dauer als auch in Hinsicht auf die nach dem Aufhören sich herausstellenden Längenverhältnisse zeigt sich, daß die obersten Regionen des Blattstieles und die untersten der Mittelrippe alle übrigen überragen, daß also die Maxima der Dauer und der Länge um die Verbindungsstelle des Blattes und des Blattstieles liegen, während die Minima an der Blattstielbasis und an der Blattspitze liegen. Die Seitenrippen verhalten sich in bezug auf die Größe und Dauer der Ausdehnung ganz so wie die Mittelrippe“ [1]).

Die folgenden Tabellen (siehe Seite 386 und 387) zeigen das Verhalten der Blätter bei dem Versuche.

Wenn man diese Tabellen betrachtet, so scheint es, als ob das Ergebnis vollkommen dem entgegengesetzt sei, das bei den einfachen

[1]) Münter, Beobachtungen über das Wachstum verschiedener Pflanzenteile. Bot. Ztg. I. Bd. 1843. S. 91—93.

Tabelle XXI.

Erstes Blatt von Arum italicum.

Alle Maßangaben in Millimetern; die Angaben für die am Licht befindlichen Exemplare sind fettgedruckt. Beginn des Versuches am 16. Januar 1913. Die Rhizome wurden in 5 Töpfe gepflanzt. Davon ist

	Nr. 0 normal. Vergl.-Expl.	Nr. 1 bleibt 13 Tage im Dunkeln	Nr. 2 bleibt 20 Tage im Dunkeln	Nr. 3 bleibt 35 Tage im Dunkeln	Nr. 4 bleibt 53 Tage im Dunkeln
Nach 13 Tagen, am 29. I., ist die Länge d. Stieles	**167**	315 hat das Wachstum noch nicht eingestellt, kommt jetzt ans Licht			
die Länge der Spreite	**61**	39			
die Breite der Spreite	**59**	30			
Nach 20 Tagen, am 5. II., ist die Länge d. Stieles	**174**	**352** ist vollkommen ergrünt	416 hat das Wachstum eingestellt, kommt jetzt ans Licht		
die Länge der Spreite	**61**	**51**	52		
die Breite der Spreite	**59**	**47**	42		
Nach 35 Tagen, am 20. II., ist die Länge d. Stieles	**174**	**359**	**447** ist vollkommen ergrünt	428 hat das Wachstum eingestellt, kommt jetzt ans Licht	
die Länge der Spreite	**63**	**60**	**70**	55	
die Breite der Spreite	**59**	**55**	**63**	42	
Nach 53 Tagen, am 10. III., ist die Länge d. Stieles	—	—	—	Ist, ohne zu ergrünen oder zu wachsen, abgestorben	441 hat das Wachstum eingestellt
die Länge der Spreite					52
die Breite der Spreite					41

Blättern dikotyler Pflanzen erzielt wurde. Denn bei den letzteren ergab sich stets, daß die etioliert gewesenen Blätter am Ende relativ größere Breite aufwiesen. Hier findet man aber relativ kleinere Breite. (Vgl. Fig. 49—54 Seite 388.) Das Verhältnis von Länge zu Breite der Blattspreite des ersten Blattes ist nämlich am Ende des Versuches bei

Nr. 0	Nr. 1	Nr. 2	Nr. 3
1,067 : 1	1,091 : 1	1,111 : 1	1,309 : 1

Die Entwicklung des Blattes erfolgt aber gerade wie die der einfachen Kotyledonenblätter basipetal. Wie ist nun das abweichende Verhalten zu erklären?

Tabelle XXII.

Zweites Blatt von Arum italicum.

Alle Maßangaben in Millimetern; die Angaben für die am Licht befindlichen Exemplare sind fettgedruckt. Beginn des Versuches am 16. Januar 1913. Die Rhizome wurden in 5 Töpfe gepflanzt. Davon ist

	Nr. 0 normal. Vergl.-Expl.	Nr. 1 bleibt 13 Tage im Dunkeln	Nr. 2 bleibt 20 Tage im Dunkeln	Nr. 3 bleibt 35 Tage im Dunkeln	Nr. 4 bleibt 53 Tage im Dunkeln
Nach 13 Tagen, am 29. I., ist die Länge d. Stieles	**162**	205 hat das Wachstum noch nicht eingestellt, kommt jetzt ans Licht			
die Länge der Spreite	**77**	47			
die Breite der Spreite	**50**	26			
Nach 20 Tagen, am 5. II., ist die Länge d. Stieles	**215**	**280** ist vollkommen ergrünt	291 hat das Wachstum eingestellt, kommt jetzt ans Licht		
die Länge der Spreite	**82**	**77**	63		
die Breite der Spreite	**55**	**48**	34		
Nach 35 Tagen, am 20. II., ist die Länge d. Stieles	**231**	**328**	**384** ist vollkommen ergrünt	502 hat das Wachstum eingestellt, kommt jetzt ans Licht	
die Länge der Spreite	**90**	**97**	**92**	61	
die Breite der Spreite	**60**	**59**	**60**	33	
Nach 53 Tagen, am 10. III., ist die Länge d. Stieles	**231**	**328**	**412**	**525** ist vollkommen ergrünt	531 hat das Wachstum eingestellt
die Länge der Spreite	**90**	**97**	**105**	**65**	62
die Breite der Spreite	**60**	**61**	**68**	**40**	33

Das Blatt von Arum italicum erreicht im Dunkeln ziemlich normale Länge, jedoch bei weitem nicht normale Breite. Ferner wächst das Blatt verhältnismäßig lange Zeit in seiner ganzen Ausdehnung, jedenfalls länger als die früher besprochenen Blätter der Dikotyledonen. Die Folge davon ist, daß es, nachdem es im Dunkeln das Wachstum eingestellt hat, auch in seiner ganzen Ausdehnung die Fähigkeit, das Wachstum am Licht wieder aufzunehmen, ziemlich lange beibehält. So ist z. B. das erste Blatt von Nr. 2 in seiner ganzen Ausdehnung wieder zum Wachsen angeregt worden. Es hat infolgedessen auch eine Länge und Breite erreicht, die die des normalen Blattes sogar etwas übertreffen, deren Verhältnis zueinander aber nur sehr wenig

Fig. 49. Fig. 50. Fig. 51. Fig. 52. Fig. 53. Fig. 54.

Fig. 49: Normales Blatt von Arum italicum.
„ 50: Blatt einer Pflanze, die 13 Tage im Dunkeln und dann am Licht war.
„ 51: „ „ „ „ 20 „ „ „ „ „ „ „ „
„ 52: „ „ „ „ 35 „ „ „ „ „ „ „ „
„ 53: Etioliertes Blatt, ausgebreitet, um die Größe der Fläche zu zeigen.
„ 54: Etioliertes Blatt, zusammengefaltet.

von dem normalen abweicht. Neben der Tatsache, daß das Blatt in allen Teilen wieder zum Wachsen angeregt worden ist, wird für die Erklärung der dem normalen Blatt gegenüber erlangten größeren Fläche dieses Blattes noch der Umstand zu beachten sein, daß die Pflanze unmittelbar nach dem Beleuchtungswechsel erst mehrere Tage in einem halbhellen Raume geweilt hat. Nach Pfeffer[1]) nämlich „erreichen die Blätter bei einer gewissen mittleren Beleuchtung die maximale Flächengröße".

Dort nun, wo die Breite des Blattes im Verhältnis zur Länge wesentlich zurückgeblieben ist, liegt die Sache so, daß das Blatt tatsächlich das Wachstum nur noch an der Basis wieder aufnehmen konnte, aber auch nur in beschränktem Maße. Infolgedessen konnte das normale Verhältnis von Länge und Breite nicht erreicht werden, zumal da ja die Länge von vornherein schon in ihrer Entwicklung einen wesentlichen Vorsprung hatte. Mit anderen Worten: Die relativ geringere Breite der etioliert gewesenen Blätter beruht darauf, daß

1. das Blatt im Dunkeln schon relativ bedeutend länger als breit wird,
2. das Blatt ziemlich lange in seiner ganzen Ausdehnung wächst, die einzelnen Zonen also verhältnismäßig kurz hintereinander das Wachstum einstellen und schließlich kurz hintereinander die Fähigkeit verlieren, das Wachstum wieder aufzunehmen.

Sonst konnte ich für die Blätter von Arum italicum noch dieselben Erscheinungen feststellen, die ich auch bei anderen bisher be-

[1]) Pfeffer, Pflanzenphysiologie. Bd. II. Leipzig 1904. S. 99. Vgl. auch Stahl, Über den Einfluß des sonnigen oder schattigen Standortes auf die Ausbildung der Laubblätter. Jen. Zeitschr. f. Naturw. Bd. 16. 1883. S. 162.

sprochenen Blättern beobachtet habe, nämlich, daß etiolierte Blätter von einem gewissen Alter wohl noch zu ergrünen vermochten, ohne sich aber dabei zu entfalten oder gar weiterzuwachsen, und andere noch ältere auch nicht einmal mehr ergrünen konnten.

So stellt Fig. 55 eine Pflanze von Arum dar, die 53 Tage im Dunkeln gestanden hatte. Sie hat drei Blätter, die zur Zeit des Beleuchtungswechels bereits alle drei das Wachstum eingestellt hatten. Das erste Blatt hielt sich 16 Tage vollkommen unverändert am Licht. Am 17. begann die glänzend gelbe Färbung sich zu verlieren und in ein ganz mattes Gelb überzugehen. Die bisher ganz glatte und straffe Epidermis wurde schlaff und runzelig. Am. 19. Tage wurde das Blatt abgeschnitten und untersucht. Die Zellen waren jetzt z. T. abgestorben, z. T. aber plasmolisierten sie noch. Das zweite Blatt begann nach einigen Tagen allmählich von der Basis nach der Spitze hin zu ergrünen und nahm schließlich eine lichtgrüne Färbung an. Zur Entfaltung und zum Weiterwachsen kam es nicht. Das dritte Blatt endlich nahm die sattgrüne Färbung eines normalen Blattes an, entfaltete sich auch und wuchs weiter.

Fig. 55.

Der Blattstiel erlangt im Dunkeln ganz bedeutende Länge und vermag auch nach dem Beleuchtungswechsel noch weiter zu wachsen. Er verhält sich demnach gerade so wie der von Oxalis Deppei.

Die weiteren Versuche erstreckten sich auf Pflanzen mit langen, linearen, parallelnervigen Blättern. Diese Blätter besitzen alle ausgesprochen basipetale Entwicklung. „Nach Aufhören der Tätigkeit des primären, apikalen Vegetationspunktes bleibt ein tertiärer, basilarer Vegetationspunkt lange Zeit tätig; er bildet den größten Teil der Lamina“ [1]). Im Dunkeln werden diese Blätter meist übermäßig lang, erreichen aber nicht die normale Breite.

---

[1]) Hofmeister, Allgemeine Morphologie der Gewächse. Leipzig 1868. S. 530.

Die Versuche wurden angestellt mit Secale cereale, Triticum sativum, Hordeum distichum, Avena sativa, Zea Mays, ferner Narcissus incomparabilis, Tulipa Gesneriana, Hyacinthus, Crocus. Ich werde mich aber nur auf die Beschreibung einiger Versuche einlassen, da hier bei allen Pflanzen im großen und ganzen das gleiche Resultat erzielt wurde.

An erster Stelle sei erwähnt

Secale cereale.

Die bereits gekeimten Samen wurden am 25. Oktober 1912 in Töpfe gepflanzt, und zwar kamen jedesmal in einen Topf 10 bis 12 Körner. Da aber nicht alle sich weiter entwickelten, wurde vor Beginn der ersten Messung die Zahl der Pflanzen in jedem Topf auf 7 herabgesetzt. Es bedeuten also die für die Blätter der Getreidearten angegebenen Größen stets Durchschnittswerte von 7 Exemplaren.

Ich habe meine Beobachtungen bei den Getreidearten immer nur auf das erste Laubblatt beschränkt, einmal weil es leichter meßbar ist als die nächstfolgenden, die bekanntlich zum großen Teile in der Scheide der vorhergehenden stecken, zum andern vor allem, weil sich an etiolierten Exemplaren beim zweiten Blatt immer bereits Nahrungsmangel geltend macht. Das Blatt besteht aus einer nicht geschlossenen Scheide und der eigentlichen Blattspreite. Die Beobachtungen erstrecken sich nur auf letztere. Gemessen habe ich nach der Stebler-schen Methode[1]).

Tabelle XXIII.

Erstes Blatt von Secale cereale.

Alle Maßangaben sind Durchschnittswerte von je 7 Pflanzen und sind in Millimetern angegeben. Die Angaben für die am Licht befindlichen Exemplare sind fettgedruckt. Beginn des Versuchs am 25. Oktober 1912. Die Samen wurden in 4 Töpfe gepflanzt. Davon ist

	Nr. 0 normal. Vergl.-Expl.	Nr. 1 bleibt 5 Tage im Dunkeln	Nr. 2 bleibt 7 Tage im Dunkeln	Nr. 3 bleibt 11 Tage im Dunkeln
Nach 5 Tagen, am 30. X., ist die Länge des Blattes . .	**45,5**	71,3 kommt jetzt ans		
die Breite des Blattes . . .	**3,3**	2,1 Licht		
Nach 7 Tagen, am 1. XI., ist die Länge des Blattes . .	**97,5**	**97,2** vollkommen	113 kommt jetzt ans	
die Breite des Blattes . . .	**4,3**	**3,8** ergrünt	2,5 Licht	
Nach 11 Tagen, am 5. XI., ist die Länge des Blattes . .	**99,5**	**97,3**	**116** vollkommen	115
die Breite des Blattes . . .	**4,8**	**3,8**	**3** ergrünt	2,5

[1]) Stebler, Untersuchungen über das Blattwachstum. Jahrb. f. wissenschaftl. Botanik. Bd. 11. 1878. S. 53.

Es ergibt sich, daß das Blatt im Dunkeln wesentlich länger wird als am Licht, daß aber andererseits die Breite der normalen gegenüber zurückbleibt. Die angegebenen Größen stimmen mit denen Steblers[1]) nahezu überein. Nach dem Beleuchtungswechsel wächst das Blatt, wenn es im Dunkeln die Größe eines normalen ausgewachsenen Blattes noch nicht erlangt hat, wie es bei Nr. 1 der Fall ist, noch weiter, aber bedeutend langsamer, ja weit langsamer als das gleichalterige normale Blatt. Hat das etiolierte Blatt aber bereits eine Länge angenommen, die die eines ausgewachsenen normalen Blattes übertrifft, so stellt es am Licht das Längenwachstum sofort ein. Denn die geringe Größenzunahme, die doch konstatiert wurde, muß man wohl als eine Nachwirkung der Dunkelheit ansehen.

Eine gleiche Beobachtung hat Gräntz[2]) an den beim Etiolieren auch übermäßig lang werdenden Fruchtträgern von Coprinus stercorarius gemacht, die, wenn sie aus dem Dunkeln ans Licht gebracht werden, auch sofort zu wachsen aufhören.

Hinsichtlich der Breite des Blattes wurde festgestellt, daß das etiolierte Blatt am Licht an Breite zunimmt und sich so dem normalen etwas nähert.

Blätter, die im Dunkeln auch schon längere Zeit an der Grenze ihrer Wachstumsfähigkeit standen, ergrünten am Licht nur in ihrem unteren Teil. Die Spitze blieb gelb, wurde späterhin braun und starb ab. So geschah es bei Pflanzen, die am 10. und 12. November ans Licht gesetzt wurden. Das erste Blatt eines am 15. November ans Licht gebrachten Exemplares vermochte überhaupt nicht mehr zu ergrünen. Es hielt sich einige Tage lebend, vertrocknete dann langsam und ging zugrunde.

Ganz gleich verhält sich auch

Triticum sativum.

Die Samen keimten ebenfalls am 25. Oktober 1912.

Tabelle XXIV.

Erstes Blatt von Triticum sativum.

Alle Maßangaben sind Durchschnittswerte von je 7 Pflanzen und sind in Millimetern angegeben. Die Angaben für die am Licht befindlichen Exemplare sind fettgedruckt. Beginn des Versuches am 25. Oktober 1912. Die Samen wurden in 4 Töpfe gepflanzt. Davon ist

---

[1]) Stebler, a. a. O. S. 66 u. 67.

[2]) Gräntz, Über den Einfluß des Lichtes auf die Entwicklung einiger Pilze. Inaug.-Diss. Leipzig 1898. S. 33.

	Nr. 0 normal. Vergl.-Expl.	Nr. 1 bleibt 8 Tage im Dunkeln	Nr. 2 bleibt 10 Tage im Dunkeln	Nr. 3 bleibt 17 Tage im Dunkeln
Nach 8 Tagen, am 2. XI., ist die Länge des Blattes . .	107,7	141 kommt jetzt ans Licht		
die Breite des Blattes. . .	3,7	1,5		
Nach 10 Tagen, am 4. XI., ist die Länge des Blattes . .	127,8	**141** vollkommen ergrünt	134,5 kommt jetzt ans Licht	
die Breite des Blattes. . .	4,5	**3**	1,5	
Nach 17 Tagen, am 11. XI., ist die Länge des Blattes . .	127,8	**141**	**135** vollkommen ergrünt	136
die Breite des Blattes. . .	4,5	**3**	**3**	1,5

Das Resultat ist demnach völlig das gleiche wie beim vorhergehenden Versuch. Ebenso konnten auch hier an älteren, etiolierten Blättern, die im Dunkeln nicht mehr wuchsen, dieselben Beobachtungen gemacht werden wie bei Secale cereale.

Endlich sei von den Gramineen noch

Hordeum distichum

angeführt. Die Samen keimten auch am 25. Oktober 1912.

Tabelle XXV.

Erstes Blatt von Hordeum distichum.

Alle Maßangaben sind Durchschnittswerte von je 7 Pflanzen und sind in Millimetern angegeben. Die Angaben für die am Licht befindlichen Exemplare sind fettgedruckt. Beginn des Versuches am 25. Oktober 1912. Die Samen wurden in 4 Töpfe gepflanzt. Davon ist

	Nr. 0 normal. Vergl.-Expl.	Nr. 1 bleibt 8 Tage im Dunkeln	Nr. 2 bleibt 10 Tage im Dunkeln	Nr. 3 bleibt 15 Tage im Dunkeln
Nach 8 Tagen, am 2. XI., ist die Länge des Blattes . .	97	106 kommt jetzt ans Licht		
die Breite des Blattes. . .	7	4		
Nach 10 Tagen, am 4. XI., ist die Länge des Blattes . .	99	**107** ist vollkommen ergrünt	107 kommt jetzt ans Licht	
die Breite des Blattes. . .	7	**5,5**	5	
Nach 15 Tagen, am 9. XI., ist die Länge des Blattes . .	99	**107**	**107** vollkommen ergrünt	109
die Breite des Blattes. . .	7	**5,5**	**5,5**	5

Auch hier liegt dasselbe Ergebnis wie bei den anderen Getreidearten vor. Die sonstigen Beobachtungen waren auch die gleichen.

Ähnlich den Blättern der Gramineen verhalten sich auch die parallelnervigen Blätter der Zwiebelgewächse, so die von

Narcissus incomparabilis.

Die Zwiebeln waren bereits Anfang November 1912 in Töpfe gepflanzt und von da ab in einem Frühbeetkasten aufbewahrt worden. Am 7. Dezember begann der eigentliche Versuch.

Die Zwiebeln treiben bekanntlich eine ganze Anzahl langer, linearer Blätter. Gemessen und miteinander verglichen wurden natürlich stets dem Alter nach entsprechende Blätter.

Tabelle XXVI.

Blatt von Narcissus incomparabilis.

Alle Maßangaben in Millimetern; die Angaben für die am Licht befindlichen Exemplare sind fettgedruckt. Beginn des Versuches am 7. Dezember 1912. Die Zwiebeln wurden in 5 Töpfe gepflanzt. Davon ist

	Nr. 0 normal. Vergl.-Expl.	Nr. 1 bleibt 10 Tage im Dunkeln	Nr. 2 bleibt 31 Tage im Dunkeln	Nr. 3 bleibt 39 Tage im Dunkeln	Nr. 4 bleibt 55 Tage im Dunkeln
Nach 10 Tagen, am 17. XII., ist die Länge des Blattes	**82**	**112** kommt jetzt ans Licht			
die Breite des Blattes	**10**	10			
Nach 31 Tagen, am 7. I., ist die Länge des Blattes . . .	**96**	**156** vollkommen ergrünt	218 kommt jetzt ans Licht		
die Breite des Blattes	**12**	**11**	13		
Nach 39 Tagen, am 15. I., ist die Länge des Blattes . . .	**121**	**158**	**226** vollkommen ergrünt	231 kommt jetzt ans Licht	
die Breite des Blattes	**13**	**12**	**13**	12	
Nach 55 Tagen, am 31. I., ist die Länge des Blattes . . .	**142**	**158**	**226**	**237** vollkommen ergrünt	253
die Breite des Blattes	**13**	**12**	**13**	**13**	12
Nach 65 Tagen, am 10. II., ist die Länge des Blattes . . .	unveränderte Größen. Blätter von der Spitze her gebräunt				ist, ohne zu ergrünen und zu wachsen, abgestorben
die Breite des Blattes					

Das etiolierte Blatt übertrifft also an Länge das normale bei weitem. Nach dem Beleuchtungswechsel kann man die schon bei den Gramineenblättern beobachtete Erscheinung feststellen, daß die Blätter, die im Dunkeln noch nicht die Größe eines ausgewachsenen normalen erlangt haben, am Licht noch ziemlich lange weiter wachsen. Die

anderen hingegen, die die normale Länge überschritten haben, stellen am Licht sogleich das Wachstum ein.

Von der Breite des Blattes läßt sich nicht viel sagen. Sie ist bei etiolierten Blättern fast vollkommen normal und ändert sich auch nach dem Beleuchtungswechsel nicht sehr.

Etwas von Narcissus incomparabilis abweichend verhält sich

Crocus.

Die Knollen waren auch anfangs November 1912 gepflanzt und dann in dem erwähnten Frühbeetkasten gehalten worden. Am 17. Dezember begann der Versuch. Die Knollen treiben stets ein ganzes Büschel Blätter, das von einer Scheide umhüllt wird. Am 17. Dezember waren die Triebe im Durchschnitt 25 mm groß; sie wurden noch vollkommen von der Scheide überzogen. Da die Knollen gewöhnlich mehrere solche Büschel von Blättern trieben, so wurden hier stets nur die ersten in Betracht gezogen. Die angegebenen Maße sind stets Durchschschnittswerte von sämtlichen an dem Büschel beteiligten Blättern. Die Blätter selbst sind sehr schmal und linear, ihre Ränder auf der Unterseite eingerollt.

Tabelle XXVII.

Blatt von Crocus.

Alle Maßangaben in Millimetern; die Angaben für die am Licht befindlichen Exemplare sind fettgedruckt. Beginn des Versuches am 17. Dezember 1912. Die Knollen wurden in 4 Töpfe gepflanzt. Davon ist

	Nr. 0 normal. Vergl.-Expl.	Nr. 1 bleibt 23 Tage im Dunkeln	Nr. 2 bleibt 30 Tage im Dunkeln	Nr. 3 bleibt 45 Tage im Dunkeln
Nach 23 Tagen, am 9. I., ist die Länge des Blattes . .	84	123 kommt jetzt ans Licht		
die Breite des Blattes. . .	2,5	1,5		
Nach 30 Tagen, am 16. I, ist die Länge des Blattes . .	98	**154** vollkommen ergrünt	158 kommt jetzt ans Licht	
die Breite des Blattes. . .	3	**2,5**	1,5	
Nach 45 Tagen, am 31. I., ist die Länge des Blattes . .	162	**225**	**235** vollkommen ergrünt	268
die Breite des Blattes. . .	3,5	**3**	**2,5**	2

Die Blätter nehmen also im Dunkeln übernormale Länge an, während ihre Breite hinter der normalen zurückbleibt[1]). Nach dem

[1]) Sachs, Über den Einfluß des Tageslichts auf Neubildung und Entfaltung verschiedener Pflanzenorgane. Bot. Ztg. Bd. 21. 1863. Beilage zu Nr. 31—33. S. 12.

Etiolement wachsen die Blätter auch noch ganz bedeutend und suchen vor allem noch normale Breite anzunehmen. Worauf das Weiterwachsen der bereits überverlängerten Blätter am Licht zurückzuführen ist, muß ich dahingestellt sein lassen. Vielleicht liegt es daran, daß die umhüllende Scheide sehr groß ist, die basale Wachstumszone infolgedessen, auch wenn die Pflanze sich am Licht befindet, doch ziemlich in vollem Dunkel steckt, und daß nun der Einfluß des Lichtes auf die Wachstumszone sich deswegen nicht so rasch geltend macht. Vielleicht liegen auch andere Ursachen vor. Denn dasselbe Verhalten wurde ja bei den Blattstielen von Oxalis Deppei und Arum italicum beobachtet, wo diese Erklärung natürlich unmöglich ist.

Ein Resultat, das mit dem für die Blätter von Narcissus incomparabilis gewonnenen völlig übereinstimmt, stand zu erwarten bei

Hyacinthus.

Der Versuch begann auch am 7. Dezember 1912. Die Blätter treiben hier ebenfalls direkt aus der Zwiebel heraus. Im Laufe des Versuches mußte ich nun aber leider feststellen, daß ich Zwiebeln zweier verschiedener Varietäten bekommen hatte. Im Prinzip würde das freilich für meine Untersuchungen gleichgültig gewesen sein, wenn sich nicht plötzlich herausgestellt hätte, daß beide Varietäten sich im Dunkeln ganz verschieden verhalten. Die eine Varietät entwickelte nämlich, wie es zunächst auch zu erwarten war und auch von Massart[1]) angegeben wird, im Dunkeln längere Blätter als am Licht. Die andere Varietät jedoch bildete kürzere Blätter, eine Erscheinung, die, wie ich nachträglich merkte, Jost[2]) für Hyacinthus als allgemeingültig annimmt. Da ich leider nur sehr wenig Material zur Verfügung hatte und mir auch keines weiter beschaffen konnte, mußte ich es aufgeben, das Verhalten beider Varietäten zu verfolgen. Vermutlich werden sich die Blätter, die im Dunkeln länger als die normalen werden, so wie die Blätter von Narcissus incomparabilis verhalten, während die anderen ein Verhalten zeigen werden, wie wir es gleich kennen lernen werden für die Blätter von

Tulipa Gesneriana.

Die Zwiebeln waren ebenfalls seit Anfang November 1912 im Dunkeln und in der Kälte aufbewahrt worden. Sie wurden am 15. Januar zum Versuch verwendet.

Die Blätter, die ebenfalls linear sind, entspringen hier nicht direkt aus der Zwiebel, sondern sitzen am Blütenschaft, und zwar wird in jugendlichem Zustand das jüngere Blatt immer von dem vor-

---

[1]) Massart, Comment les plantes vivaces sortent de terre au printemps. Bulletin du jardin botanique de l'Etat à Bruxelles. 1902. p. 167.

[2]) Jost, a. a. O. S. 369.

hergehenden älteren Blatt umhüllt. Später erst streckt sich das zugehörige Internodium und hebt so das jüngere Blatt aus der Umhüllung des älteren, das sich inzwischen ausbreitet, empor.

Tabelle XXVIII.

Erstes Blatt von Tulipa Gesneriana.

Alle Maßangaben in Millimetern; die Angaben für die am Licht befindlichen Exemplare sind fettgedruckt; Beginn des Versuches am 15. Januar 1913. Die Zwiebeln wurden in 4 Töpfe gepflanzt. Davon ist

	Nr. 0 normal Vergl.-Expl.	Nr. 1 bleibt 15 Tage im Dunkeln	Nr. 2 bleibt 19 Tage im Dunkeln	Nr. 3 bleibt 26 Tage im Dunkeln
Nach 15 Tagen, am 30. I., ist die Länge d. Blattes	**126**	66 hat das Wachstum eingestellt, kommt		
die Breite d. Blattes	**28**	12 jetzt ans Licht		
Nach 19 Tagen, am 3. II., ist die Länge d. Blattes	**161**	**88** vollkommen ergrünt	99 hat das Wachstum eingestellt, kommt	
die Breite d. Blattes	**35**	**21**	25 jetzt ans Licht	
Nach 26 Tagen, am 10. II., ist die Länge d. Blattes	**191**	**115**	**143** vollkommen ergrünt	85 hat das Wachstum eingestellt, kommt
die Breite d. Blattes	**36**	**27**	**33**	22 jetzt ans Licht
Nach 37 Tagen, am 21. II., ist die Länge d. Blattes	**194**	**119**	**146**	ist, ohne zu ergrünen und ohne zu wachsen, abgestorben
die Breite d. Blattes	**36**	**27**	**33**	

Tabelle XXIX.

Zweites Blatt von Tulipa Gesneriana.

Alle Maßangaben in Millimetern; die Angaben für die am Licht befindlichen Exemplare sind fettgedruckt; Beginn des Versuches am 15. Januar 1913. Die Zwiebeln wurden in 4 Töpfe gepflanzt. Davon ist

	Nr. 0 normal. Vergl.-Expl.	Nr. 1 bleibt 15 Tage im Dunkeln	Nr. 2 bleibt 19 Tage im Dunkeln	Nr. 3 bleibt 26 Tage im Dunkeln
Nach 15 Tagen, am 30. I., ist die Länge d. Blattes	**103**	53 hat das Wachstum noch nicht eingestellt, kommt jetzt		
die Breite d. Blattes	**16**	11 ans Licht		
Nach 19 Tagen, am 3. II., ist die Länge d. Blattes	**133**	**71** vollkommen ergrünt	80 hat das Wachstum eingestellt, kommt jetzt	
die Breite d. Blattes	**19**	**16**	20 ans Licht	

	Nr. 0 normal. Vergl.-Expl.	Nr. 1 bleibt 15 Tage im Dunkeln	Nr. 2 bleibt 19 Tage im Dunkeln	Nr. 3 bleibt 26 Tage im Dunkeln
Nach 26 Tagen, am 10. II., ist die Länge des Blattes . . .	137	94	123 vollkommen ergrünt	82 hat das Wachstum eingestellt, kommt jetzt ans Licht
die Breite des Blattes	22	19	23	19
Nach 37 Tagen, am 21. II., ist die Länge des Blattes . . .	139	94	131	98 vollkommen ergrünt
die Breite des Blattes	22	19	23	21

Das Verhalten der Blätter von Tulipa Gesneriana weicht somit von dem der anderen linearen Monokotylenblätter ab. Die Blätter bleiben im Dunkeln, ebenso wie es für die eine Varietät von Hyacinthus angegeben wurde, wesentlich kürzer als am Licht. Die Breite ist auch geringer.

Späterhin, am Licht, nehmen die Blätter das Wachstum wieder auf, vermögen aber weder normale Länge noch normale Breite zu erzielen. Je nach einem gewissen Alter vermag das Blatt am Licht überhaupt nicht mehr zu ergrünen noch wieder zu wachsen.

Die Blätter von Tulipa Gesneriana verhalten sich somit den einfachen Dikotylenblättern ganz ähnlich. Offenbar wird das mit dadurch bedingt, daß auch die Internodien beim Etiolement dieselben Erscheinungen zeigen wie die dikotyler Pflanzen, d. h. daß sie im Dunkeln bedeutend länger werden als am Licht, während sonst die Internodien der Monokotyledonen im Dunkeln gestaucht bleiben. Die folgenden Tabellen zeigen das Verhalten der Internodien bei dem Versuch.

Tabelle XXX.

Erstes Internodium von Tulipa Gesneriana.

Alle Maßangaben in Millimetern; die Angaben für die am Licht befindlichen Exemplare sind fettgedruckt. Beginn des Versuches am 15. Januar 1913. Die Zwiebeln wurden in 4 Töpfe gepflanzt. Davon ist

	Nr. 0 normal. Vergl.-Expl.	Nr. 1 bleibt 15 Tage im Dunkeln	Nr. 2 bleibt 19 Tage im Dunkeln	Nr. 3 bleibt 26 Tage im Dunkeln
Nach 15 Tagen, am 30. I., ist die Länge des Internodiums	8	34 kommt jetzt ans Licht		
Nach 19 Tagen, am 3. II., ist die Länge des Internodiums	20	38	102 kommt jetzt ans Licht	
Nach 26 Tagen, am 10. II., ist die Länge des Internodiums	26	39	102	113

Tabelle XXXI.

Zweites Internodium von Tulipa Gesneriana.

Alle Maßangaben in Millimetern; die Angaben für die am Licht befindlichen Exemplare sind fettgedruckt. Beginn des Versuches am 15. Januar 1913. Die Zwiebeln wurden in 4 Töpfe gepflanzt. Davon ist

	Nr. 0 normal. Vergl.-Expl.	Nr. 1 bleibt 15 Tage im Dunkeln	Nr. 2 bleibt 19 Tage im Dunkeln	Nr. 3 bleibt 26 Tage im Dunkeln
Nach 15 Tagen, am 30. I., ist die Länge des Internodiums	10	14 (kommt jetzt ans Licht)		
Nach 19 Tagen, am 3. II., ist die Länge des Internodiums	17	**21**	40 (kommt jetzt ans Licht)	
Nach 26 Tagen, am 10. II., ist die Länge des Internodiums	18	**22**	**40**	54

Die überverlängerten Internodien stellen also, sobald sie ans Licht kommen, das Wachstum ein, genau so wie die vorher besprochenen linearen Monokotylenblätter und die Blattstiele von Oxalis Deppei und Arum italicum.

Wahrscheinlich verhält sich bei Tulipa die Sache ähnlich wie bei Hyacinthus, daß nämlich je nach der Varietät oder Art die Pflanze im Dunkeln längere oder kürzere Blätter und bei Tulipa dementsprechend auch kürzere oder längere Internodien entwickelt.

Allgemeine Betrachtungen.

Aus den Versuchen geht deutlich hervor, daß die Blätter dikotyler wie monokotyler Pflanzen alle das Bestreben haben, nach dem Etiolement möglichst noch normale Form und Größe anzunehmen. Die dikotylen Blätter nehmen nach dem Beleuchtungswechsel das Wachstum wieder auf und wachsen weiter. Die monokotylen Blätter können natürlich ihre Länge nicht auf die normale reduzieren. Sie stellen aber das Längenwachstum sofort ein und suchen nur noch normale Breite zu gewinnen. Doch sind allen Blättern in ihren Bestrebungen Grenzen gesetzt. Das gilt vor allem für die Blätter der dikotylen Pflanzen.

Wir haben gesehen, daß bei den angestellten Versuchen auch nicht in einem einzigen Falle das etiolierte Blatt am Licht noch vollkommen normale Größe und Form erreicht hat, daß vielmehr die Abweichung von der normalen Form um so größer ist, je länger das Etiolement gedauert hat, und daß es schließlich eine Grenze gibt, jenseits der überhaupt keine Wiederaufnahme des Wachstums erfolgt.

Vergleichen wir nun einmal die gewonnenen Resultate mit den auf die Blätter, und zwar nur auf die Blätter dikotyler Pflanzen, bezüglichen Angaben Ricômes. Wie oben erwähnt, sagt Ricôme zunächst ganz allgemein:

1. Die etiolierten Blätter wachsen am Licht entweder überhaupt nicht weiter, oder aber
2. sie wachsen weiter, erreichen jedoch nicht normale Größe, oder aber
3. sie wachsen weiter und erreichen größere Dimensionen als die normalen.

Die ersten beiden Punkte, auf die übrigens Ricôme nirgends näher eingegangen ist, finden durch meine Untersuchungen volle Bestätigung. Anders ist es mit Punkt 3. Ricôme[1]) hat bei Solanum tuberosum, Ervum Lens, Faba vulgaris und Ricinus communis größere Dimensionen der etioliert gewesenen Blätter gefunden und zieht daraus seine Schlüsse. Ich habe diese Erscheinung nur einmal, und auch da nur sehr wenig hervortretend, gefunden, nämlich bei Solanum tuberosum, aber auch nur bei der Endfieder. Sonst ist mir dieser Fall nie begegnet, auch nicht bei Ervum Lens! Für Solanum tuberosum gibt Ricôme allerdings an, daß es sich hier um Blätter handelt, „qui sont nées soit à l'obscurité, soit à la lumière, vers le moment du changement de conditions". Ob es sich bei den anderen Pflanzen auch um Blätter handelt, die zur Zeit des Beleuchtungswechsels entstanden sind, geht aus Ricômes Beschreibung nicht hervor. Ich möchte es aber fast annehmen. Ich meine nun, daß man in diesem Falle nie mit positiver Gewißheit von wirklich etioliert gewesenen Blättern sprechen kann, selbst dann nicht, wenn die Blätter tatsächlich noch in der Dunkelheit den Anfang ihrer Entwicklung genommen haben. Denn das würde zunächst noch keine wesentliche Abweichung von der normalen Entwicklung des Blattes ergeben, da diese sich doch bekanntlich in ihren ersten Stadien innerhalb der Knospe auch in mehr oder minder vollkommener Dunkelheit vollzieht. Ich glaube deshalb, daß wir es bei den Blättern, die Ricôme hauptsächlich beschreibt, gar nicht mit wirklich etioliert gewesenen Blättern zu tun haben, sondern vielleicht mit Schattenblättern im Stahlschen Sinne[2]). Die Pflanzen sind aus dem Dunkeln nicht direkt in volles Licht, sondern zunächst in einen halbhellen Raum gekommen. Dort haben diese Blätter vielleicht ihre Hauptentwicklung genommen und so diese Dimensionen erreicht. Freilich würde dieser Ansicht der Umstand widersprechen, daß diese Blätter auch größere Dicke als die normalen

[1]) Ricôme, a. a. O. S. 38 u. 39. [2]) Stahl, a. a. O.

haben, was bei den Stahlschen Schattenblättern gerade umgekehrt ist[1]). An sich wäre es ja zu verstehen, daß die Pflanze, die im Dunkeln nicht assimilieren konnte, sobald sie ans Licht kommt, rasch möglichst große Assimilationsflächen zu erlangen sucht und deshalb die ersten hier entstehenden Blätter größer ausbildet. Doch habe ich außer bei Solanum tuberosum dies Verhalten bei keiner Pflanze bemerkt.

Die von mir beobachteten Erscheinungen sind Ricôme offenbar vollkommen entgangen. Denn abgesehen von der oben erwähnten allgemeinen Bemerkung ist sonst nichts zu finden. Vor allem hat er es unterlassen, näher auf die Wachstumsverhältnisse der einzelnen Organe, vor allem auf die Wachstumsverteilung einzugehen. Er erwähnt nur die „Dauer der Wachstumsfähigkeit" und sucht diese bei seinen Erklärungen mit hereinzuziehen. Dadurch aber, daß er eben die Wachstumsverhältnisse übersehen hat, ist er sicherlich zu der von ihm gegebenen, meines Erachtens irrigen Erklärung gekommen.

Ricôme schreibt (S. 121): „Les feuilles, nées à l'obscurité et capables de croissance après le transport de la plante à la lumière, ainsi que les feuilles nées à la lumière peuvent devenir plus grandes qu'à l'état normal, quand les réserves ne font pas défaut."

Weiter unten steht dann (S. 135):

„Il existe pour chaque organe (entrenœud ou feuille) un espace de temps limité durant lequel s'effectue la croissance: si la croissance est lente, l'organe reste petit; si elle est rapide, l'organe devient grand. Au delà de cette limite de temps, la croissance n'est plus possible. Il y a aussi une capacité de différenciation d'une durée limitée et plus ou moins en relation avec la capacité de croissance.

Les entrenœuds et les feuilles qui ont épuisé à l'obscurité leur faculté de croissance, ne s'accroissent pas après le retour aux conditions normales: les entrenœuds ne s'allongent plus, les feuilles restent petites. Ceux qui n'avaient pas épuisé cette capacité au moment du transport à la lumière, continuent à grandir (les entrenœuds, plus lentement, les feuilles, plus rapidement, probablement à cause du phénomène de la transpiration). Les feuilles qui ne disposent que d'une faible durée de capacité de croissance, n'atteignent pas les dimensions et la différenciation normales. Lorsque, au contraire, cette durée est grande, la feuille atteint et dépasse, à cause de la transpiration, les dimensions normales; elle acquiert une haute différenciation."

Ricôme bringt also zwei völlig verschiedene Erklärungen für das Verhalten der Blätter. Einmal macht er es abhängig von dem

[1]) Stahl, a. a. O. S. 182.

Vorhandensein von Reservestoffen, das andere Mal von der Dauer der Wachstumsfähigkeit. Ob er beide Erklärungen in ursächlichen Zusammenhang miteinander gebracht wissen will, nämlich so, daß ein mehr oder minder großer Vorrat an Reservestoffen auch eine mehr oder minder lange Dauer der Wachstumsfähigkeit der einzelnen Organe bedingt, geht aus seiner Arbeit nicht hervor.

Schließlich schreibt Ricôme auch der Transpiration einen großen Einfluß zu (S. 132).

Die Transpiration war zur Erklärung der Erscheinungen des Etiolements schon von Palladin herangezogen worden[1]). Er meinte, das Verhalten der Internodien und Blätter lediglich auf die im Licht und in der Dunkelheit verschieden starke Transpiration und auf das „Verhältnis der durch die Blätter transpirierten Wassermenge zu derjenigen, welche durch den Stengel transpiriert wird", zurückführen zu können.

Die Versuche Wiesners[2]), der Pflanzen im absolut feuchten Raume und bei normaler Beleuchtung oder im Dunkeln in mehr oder minder feuchten Räumen kultivierte, haben jedoch ergeben, daß die Transpiration durchaus nicht als alleiniger oder maßgebender Faktor hier in Betracht kommt. Wiesner zeigt vor allem, wie früher schon Sorauer[3]) und nach ihm Lothelier[4]) und Eberhardt[5]), daß auch die Feuchtigkeitsverhältnisse der Luft für die Gestaltung der Organe von Einfluß sind.

Übrigens ist Palladin[6]) selbst später etwas anderer Meinung, indem er nämlich „den Mangel an Wasser, das geringe Verhältnis mineralischer Substanz und die Abwesenheit von Kohlehydraten als die drei Ursachen des Kleinbleibens etiolierter Blätter" bezeichnet und es ferner dahingestellt sein läßt, ob nicht außerdem noch andere Faktoren mit im Spiele sind.

---

[1]) Palladin, Transpiration als Ursache der Formänderung etiolierter Pflanzen. Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 8. 1890. S. 364.

[2]) Wiesner, Formänderungen von Pflanzen bei Kultur im absolut feuchten Raume und im Dunkeln. Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 9. S. 46.

[3]) Sorauer, Der Einfluß der Luftfeuchtigkeit. Bot. Ztg. Bd. 36. 1878. S. 1.

[4]) Lothelier, Recherches sur les plantes à piquants. Revue générale de botanique. Bd. V. 1893. S. 480.

[5]) Eberhardt, Actions de l'air sec et de l'air humide sur les végétaux. Comptes rendus des séances de l'académie des sciences. Bd. 31. 1900. S. 193. Influence du milieu sec et du milieu humide sur la structure des végétaux. Ebenda. S. 513.

[6]) Palladin, Recherches sur la respiration des feuilles vertes et des feuilles étiolées. Revue générale de botanique. Bd. V, 1893. S. 471.

Auf den Mangel an Wasser weist auch Mer[1]) hin. Er meint, die Blätter bleiben im Dunkeln klein, weil sie nicht genügend ernährt werden, weil sie im Dunkeln nicht genug Anziehungskraft auf das Wasser und die plastischen Stoffe ausüben und endlich weil sie nicht assimilieren.

Daß der letztere Punkt aber nur sehr wenig in Betracht kommt, beweist einmal die Tatsache, daß Blätter in kohlensäurefreier Luft normale Gestalt annehmen, wenn genug Reservestoffe da sind. Ferner lehren es die Versuche Batalins[2]), der an Pflanzen, die er täglich $1^1/_2$—3 Stunden belichtete, ohne daß jedoch die Blätter während dieser Zeit ergrünten und assimilierten, Blätter von nahezu normaler Größe erhielt. Ebenso erzielte Jost[3]) an keimenden, etiolierenden Feuerbohnen Blätter von normaler Größe dadurch, daß er zunächst die Spitze des Sprosses und dann alle auftretenden Vegetationspunkte entfernte. Die bereits gebildeten Blätter erreichten dadurch, ohne zu assimilieren, normale Dimensionen.

Damit, wie auch durch die Untersuchungen von Carl Kraus[4]), Vöchting[5]) u. a., ist zugleich auch die von Gregor Kraus[6]) ausgesprochene Meinung widerlegt. Gr. Kraus glaubte nämlich, das Blatt müsse sich selbst, d. h. durch seine eigenen Assimilationsprodukte, ernähren, könne sich folglich im Dunkeln nicht normal entwickeln, da dort die Assimilation unterbunden ist.

Die Ansicht, daß mangelhafte Ernährung das Kleinbleiben der Blätter verursache, ist schon von Sachs[7]) ausgesprochen und kehrt in mehreren späteren Arbeiten wieder, so bei Amelung[8]), Vogt[9]), Téodoresco[10]) und Dubbels[11]). Der Umstand aber, daß Kotyledonen, die reich an Nährstoffen sind, ebenfalls etiolieren und daß es ferner Pflanzen gibt, die auch im Dunkeln Blätter von nahezu normaler Größe erreichen, beweist die Unrichtigkeit dieser Ansicht.

---

[1]) Mer, Recherches sur les anomalies de dimensions des entrenœuds et des feuilles étiolées. Bull. de la société botanique de France. Bd. 22. 1875. S. 200.

[2]) Batalin, a. a. O. S. 675.

[3]) Jost, Über die Abhängigkeit des Laubblattes von seiner Assimilationstätigkeit. Jahrb. f. wiss. Botanik. Bd. 27. 1895. S. 405.

[4]) C. Kraus, Über einige Beziehungen des Lichts zur Form- und Stoffbildung der Pflanzen. Flora 1878. S. 149.

[5]) Vöchting, Über die Abhängigkeit des Laubblattes von seiner Assimilationstätigkeit. Bot. Ztg. Bd. 49. 1891. S. 135 u. 136.

[6]) Gr. Kraus, Über die Ursachen der Formänderungen etiolierender Pflanzen. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 7. 1869/70. S. 213.

[7]) Sachs, a. a. O. [8]) Amelung, a. a. O. S. 206.

[9]) Vogt, a. a. O. [10]) Téodoresco, a. a. O. S. 380.

[11]) Dubbels, a. a. O.

Der Versuch Josts[1]), dem sich später Riehm[2]) anschließt, die Erscheinungen auf rein korrelative Wirkungen zurückzuführen, begegnet auch mannigfachen Schwierigkeiten. Godlewski[3]) hat schon nachgewiesen, daß die mit Reservestoffen reich versehenen Kotyledonen von Raphanus, auch wenn sie von der Pflanze isoliert, also den korrelativen Wirkungen entzogen werden, unter sonst günstigen Umständen nicht wachsen.

Schließlich sei hier noch Batalin[4]) erwähnt, der den Zellen ein Unvermögen, sich im Dunkeln zu teilen, zuschreibt. Prantl[5]) hat nachgewiesen, daß das irrig ist.

Durch meine Versuche bin ich selbst zu einer anderen Auffassung gekommen. Der Umstand nämlich, daß die Blätter, die im Dunkeln zu wachsen aufgehört haben, später am Licht das Wachtum wieder aufnehmen, führt wohl ohne weiteres zu der Annahme hin, daß wir es hier mit einer Reizwirkung des Lichtes zu tun haben. Denn der Einwand, daß etwa das Wiederaufnehmen des Wachstums eine Folge der Assimilation und der dadurch bedingten reicheren Ernährung sei, ist hinfällig. Einmal waren in den meisten Fällen Reservestoffe in Menge vorhanden, die, wenn nur das Wachstumsbestreben im Blatte vorhanden gewesen wäre, leicht hätten verwendet werden können[6]), andererseits wurden Blätter erzielt, die am Licht wohl noch ergrünen und assimilieren, keineswegs aber sich entfalten und wieder wachsen konnten, offenbar, weil sie die Wachstumsfähigkeit verloren hatten. Es ist deshalb auch die Ansicht Bertholds[7]) irrig, „das Licht sei nur für die Ausbildung des Chlorophyllfarbstoffes und für die letzte Ausgestaltung des Gewebes im Mesophyll selber notwendig".

Überdies sind ja auch eine ganze Anzahl anderer Fälle bekannt, wo das Licht zum Wachsen unbedingt erforderlich ist, somit als Wachstumsreiz wirkt. Nach Laage[8]), Leitgeb[9]) und

---

[1]) Jost, a. a. O.

[2]) Riehm, Beobachtungen an isolierten Blättern. Zeitschr. f. Naturwissenschaften. Bd. 77. 1904. S. 302.

[3]) Godlewski, a. a. O. S. 102.

[4]) Batalin, a. a. O. S. 675.

[5]) Prantl, Über den Einfluß des Lichts auf das Wachstum der Blätter. Arbeiten des botan. Instituts in Würzburg. Bd. 1. 1874. S. 384.

[6]) Vgl. Pfeffer, a. a. O. S. 113.

[7]) Berthold, Untersuchungen zur Physiologie der Pflanzenorganisation. II. Teil. Leipzig 1904. S. 187.

[8]) Laage, Bedingungen der Keimung von Farn- und Moossporen. Bot. Zentralbl. Beiheft 1907.

[9]) Leitgeb, Die Keimung der Lebermoossporen in ihrer Beziehung zum Lichte. Sitz.-Ber. d. K. Akad. d. Wiss. Jahrg. 1876. Mathem.-naturw. Kl. Bd. 74. Abt. 1. Heft 3.

Borodin[1]) bedürfen die Sporen verschiedener Moose und Farne zur Keimung unbedingt des Lichtes. Ebenso verhält es sich mit vielen Samen[2]), wie z. B. denen einiger Saxifragaceen, Campanulaceen, Droseraceen usw. Die Winterknospen von Hydrocharis morsus ranae keimen auch nur am Licht[3]). Die Brutknospen von Marchantia entwickeln im Dunkeln keine Sprosse[4]). Nach Jost[5]) treiben die Knospen verdunkelter Buchenzweige nicht aus, usw. All dies bestärkt aber die Annahmen, daß das Licht zur Entfaltung und Entwicklung des Blattes als auslösender Faktor notwendig sein kann!

Diese Ansicht ist keineswegs neu. Schon Godlewski ist der Meinung, „daß das Licht eine Bedingung des normalen Wachstums der Blätter ist“[6]). Er widerlegt[7]) später auch die vielfach geäußerte Meinung[8]), daß man es in den Etiolierungserscheinungen mit krankhaften Zuständen zu tun habe.

Erst Frank[9]) jedoch spricht von „spezifisch verschiedenen Reizen,

---

[1]) Borodin, Über die Wirkung des Lichtes auf einige höhere Kryptogamen. Bull. de l'acad. des sciences de St. Pétersbourg. Bd. 12. 1868. S. 432.

[2]) Figdor, Über den Einfluß des Lichtes auf die Keimung der Samen einiger Gesneriaceen. Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 25. 1907. S. 582. — Wiesner, Über die Ruheperiode und über einige Keimungsbedingungen der Samen von Viscum album. Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 15. 1897. S. 503. — Heinricher, Beeinflussung der Samenkeimung durch das Licht. Wiesner-Festschrift. Wien 1908. S. 263. — Kinzel, Über den Einfluß des Lichtes auf die Keimung. „Lichtharte Samen“. Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 25. 1907. S. 269. — Kinzel, Lichtkeimung. Einige bestätigende und ergänzende Bemerkungen zu den vorläufigen Mitteilungen von 1907 u. 1908. Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 26a. 1908. S. 631. — Kinzel, Lichtkeimung. Weitere bestätigende und ergänzende Bemerkungen zu den vorläufigen Mitteilungen von 1907 u. 1908. Ebenda. S. 654. — Kinzel, Lichtkeimung. Erläuterungen und Ergänzungen. Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 27. 1909. S. 536. — Lehmann, Zur Keimungsphysiologie und -biologie von Ranunculus sceleratus L. und einigen anderen Samen. Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 27. 1909. S. 476. — Lehmann, Neuere Untersuchungen über Lichtkeimung. Jahresber. d. Vereinigung f. angewandte Botanik. 8. Jahrg. 1910. S. 248.

[3]) Wisniewski, Beiträge zur Kenntnis der Keimung der Winterknospen der Wasserpflanzen. Krakau 1912. Extrait du Bull. de l'Acad. des sciences de Cracovie. S. 1049.

[4]) Pfeffer, Studien über Symmetrie und spezifische Wachstumsursachen. Arb. d. bot. Instituts in Würzburg. Bd. 1. 1874. S. 93.

[5]) Jost, Über den Einfluß des Lichtes auf das Knospentreiben der Rotbuche. Ber. d. deutsch. bot. Ges. 1894. S. 194.

[6]) Godlewski, a. a. O. S. 102.

[7]) Godlewski, Über die biologische Bedeutung der Etiolierungserscheinungen. Biolog. Zentralbl. Bd. 9. 1889—1890. S. 487.

[8]) Prantl, a. a. O. S. 386. — Rauwenhoff, Sur les causes des formes anomales des plantes qui croissent dans l'obscurité. Annales des sciences naturelles. 7. Série botanique. Bd. V. 1878. S. 313.

[9]) Frank, Lehrbuch der Botanik. Bd. 1. 1892. S. 397.

welche Licht und Dunkelheit auf die verschiedenen Organe ausüben". Ob die Dunkelheit wirklich als auslösender Reiz selber in Betracht kommt, möchte ich dahingestellt sein lassen. Ich glaube vielmehr, in den hier auftretenden Erscheinungen nur eine Folge des fehlenden Lichtreizes zu sehen.

Wie Frank, sieht auch Noll[1]) die Dunkelheit als einen Reiz an, „der gewissermaßen die Pflanze so wie den Menschen in einen gewissen Erregungszustand versetzt".

Schließlich hat Pfeffer[2]) klar und deutlich sich dahin ausgesprochen, „daß es sich bei dem Etiolement in erster Linie um eine Reizwirkung des Lichtes, aber nicht um einen durch Nahrungsmangel verursachten Erfolg handelt". Diese Meinung wird auch keineswegs durch die Versuche von Sachs, Amelung usw. widerlegt. Diese Versuche wurden so angestellt, daß die Pflanzen erst eine Zeitlang am Licht gezogen und dann nur ihre Endknospen in einen Dunkelraum eingeführt wurden. Es zeigte sich dann, daß die zunächst im Dunkeln entstehenden Blätter ziemlich bedeutende, mitunter fast normale Größe erreichten, daß die Größe der Blätter aber mit zunehmender Entfernung vom assimilierenden Pflanzenteil abnahm, nach Ansicht der genannten Autoren wegen ungenügender Ernährung. Sicher wird das zum Teil der Fall sein. Doch werden dabei auch noch anderweitige correlative Wirkungen in Betracht kommen, so auch die Reizwirkung des Lichtes, die sich bei den entfernteren Blättern weniger geltend macht.

Pfeffer haben sich dann in ihren Ansichten Mac Dougal[3]) und Fitting[4]) angeschlossen.

Natürlich ist klar, daß das Licht nicht selbst als gestaltender Faktor, sondern nur als auslösender Faktor in Betracht kommt. Wie die Reaktionskette von der Perzeption des Reizes an bis zur sichtbaren, formativen Wirkung verläuft, darüber läßt sich bei dem jetzigen Stand unserer Kenntnisse nichts sagen. Die Ansicht, daß Unterschiede des Turgors eine vorwiegende Rolle spielen[5]), ist jedenfalls klar widerlegt[6]). Wahrscheinlich ruft das Licht im Blatt chemische Veränderungen

---

[1]) Noll, Über das Etiolement der Pflanzen. Sitz.-Ber. d. Niederrhein. Gesellschaft f. Natur- u. Heilkunde. 1901. S. 60 u. 61.

[2]) Pfeffer, Pflanzenphysiologie. II. Bd. Leipzig 1904. S. 114.

[3]) Mac Dougal, The Influence of Light and Darkness upon Growth and Development. Memoirs of the New York Botanical Garden. Bd. II. 1903. S. 285 ff.

[4]) Fitting, Lichtperzeption und phototropische Empfindlichkeit, zugleich ein Beitrag zur Lehre vom Etiolement. Jahrb. f. wiss. Botanik. Bd. 45. 1908. S. 124.

[5]) de Vries, Über die Bedeutung der Pflanzensäuren für den Turgor der Zellen. Bot. Ztg. Bd. 37. 1879. S. 852.

[6]) Godlewski, Über die Beeinflussung des Wachstums der Pflanzen durch äußere Faktoren. Anzeiger d. Akad d. Wissenschaften in Krakau. 1890. S. 166. —

irgendwelcher Art hervor[1]), die dann die formativen Änderungen bewirken. So nimmt auch Lehmann[2]) an, daß das Licht in den Samen, die nur bei Beleuchtung keimen, „irgendwelche chemische Umsetzungen auslöst oder hemmt und dadurch seinen Einfluß ausübt".

Eine Beobachtung, die mit den von mir gemachten in engem Zusammenhange steht, hat übrigens schon Detmer[3]) gemacht. Er unterwarf etiolierte Keimpflanzen von Phaseolus und Cucurbita einer intermittierenden Beleuchtung von mehreren Stunden. Es zeigte sich dann, daß die Blätter sich daraufhin im Dunkeln flach ausbreiteten, was durch stärkeres Wachstum der Blattoberseite bedingt wurde. Die Blätter waren dabei nicht ergrünt und vermochten also auch nicht zu assimilieren. Detmer meint, daß diese Erscheinung nur durch die „Lichtwirkung" ermöglicht werde; er bezeichnet sie deshalb als Photoepinastie. Er hat auch beobachtet, daß diese Entfaltung der Blätter, d. h. das Hervorrufen des verstärkten Wachstums der Blattoberseite abhängig ist vom Alter der Pflanze. Je älter das etiolierte Blatt, desto langsamer die Entfaltung, desto „schwieriger zugleich der Ergrünungsprozeß der Blätter".

Ein weiteres Analogon zu meinen Versuchen findet man vor allem auch bei Gräntz[4]). Während es sich bei mir um normale Ausbildung der Blätter handelt, kommt bei Gräntz das normale Fruktifizieren, die Köpfchenbildung einiger Pilze in Frage. Gräntz stellt fest (S. 8), daß Pilobolus microsporus, im Dunkeln kultiviert, keine Köpfchen bildet. Werden die Kulturen später ans Licht gebracht, so bilden die Fruchtträger auch noch ihre Köpfchen aus, die dann freilich oft wesentlich kleiner sind als die normalen. Besonders interessant ist aber, daß Gräntz diese Köpfchenbildung auch durch nur vorübergehende Beleuchtung erzielte. So genügte mitunter schon eine Beleuchtung von 15 Minuten, um die Köpfchenbildung zu induzieren.

Godlewski, Die Art und Weise der wachstumsretardierenden Lichtwirkung und die Wachstumstheorien. Ebenda. S. 286. — Pfeffer, a. a. O. S. 116.

[1]) Vgl. de Candolle, Physiologie végétale. Bd. 3. Paris 1832. S. 1075. — Rauwenhoff, a. a. O. S. 312. — Vines, The Influence of Light upon the Growth of Leaves. Arbeiten des botan. Instituts in Würzburg. Bd. 2. 1882. S. 126. — Palladin, Eiweißgehalt der grünen und etiolierten Blätter. Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 9. 1891. S. 194. — Palladin, Ergrünen und Wachstum der etiolierten Blätter. Ebenda. S. 229. — Büsgen, Beobachtungen über das Verhalten des Gerbstoffes in den Pflanzen. Jenaische Zeitschr. f. Naturwissenschaften. Bd. 24. 1890. S. 19. — Kühlhorn, Beiträge zur Kenntnis des Etiolements. Inaug.-Diss. Göttingen 1904.

[2]) Lehmann, a. a. O. S. 254.

[3]) Detmer, Über Photoepinastie der Blätter. Bot. Ztg. Bd. 40. 1882. S. 787. — Detmer, Über Photoepinastie der Blätter. Jenaische Zeitschr. f. Naturwiss. Bd. 16. 1883. Sitzungsberichte. S. 24.

[4]) Gräntz, a. a. O.

Ich versuchte nun festzustellen, ob die Wiederaufnahme des Wachstums der Blätter ebenfalls durch intermittierende Beleuchtung induziert werden könne. Wie bereits oben erwähnt, hatte Batalin nahezu normale Größe der Blätter dadurch zu erzielen vermocht, daß er die Pflanzen täglich einer 1½- bis 3stündigen Belichtung aussetzte, wobei die Blätter aber nicht ergrünt waren. Offenbar hat es sich hier aber und bei allen später ausgeführten ähnlichen Versuchen stets um Blätter gehandelt, die bei Beginn des Versuches ihr Wachstum noch nicht eingestellt hatten. Hier ist das an sich noch im Blatt vorhandene Wachstumsbestreben durch den intermittierenden Lichtreiz immer gestärkt worden. Anders liegen aber die Verhältnisse, wenn das Blatt bereits sein Wachstum eingestellt hat. Da gelang es mir wenigstens in keinem Falle, weder durch einmalige längere (24 oder 48 Stunden) noch durch mehrmalige kürzere (täglich 2—3 Stunden) Beleuchtung, das Wachstum im Blatt wieder hervorzurufen, es war denn, daß das Blatt noch verhältnismäßig jung war und infolgedessen innerhalb 48 Stunden bereits voll ergrünt war. Ich mußte daher weitere Versuche in dieser Richtung aufgeben.

Zum Schluß sei noch kurz auf einige aus der Literatur bekannte Tatsachen hingewiesen, die ebenfalls zeigen, daß bereits sistiertes Wachstum durch irgendwelche Faktoren wieder angeregt wird. So strecken sich abgeschnittene Sprosse von Ceratophyllum demersum und Myriophyllum spicatum, sobald sie ins Dunkle gebracht werden[1]). Das Scheitelwachstum von Phyllocactus wird, wenn es am Licht eingestellt ist, durch Verdunkeln wieder angeregt[2]). Nach Goebel[3]) nehmen die Ausläufer von Adoxa das Wachstum wieder auf, wenn man sie aus der Erde ans Licht bringt. Zuletzt seien noch die Versuche Riehms[4]) erwähnt, der an abgeschnittenen Blättern von Beta neues Wachstum erzielt, wenn er sie injiziert und in Wasser stellt.

Zusammenfassung der Resultate.

Aus den vorliegenden Untersuchungen seien am Schluß folgende Punkte nochmals kurz hervorgehoben:

1. Die im Dunkeln kleinbleibenden Blätter können durch das Licht zum Teil zu neuem Wachstum angeregt werden.

---

[1]) Möbius, Über einige an Wasserpflanzen beobachtete Reizerscheinungen. Biolog. Zentralbl. Bd. 15. 1895. S. 1 und S. 13.

[2]) Pfeffer, a. a. O. S. 106.

[3]) Goebel, Einleitung in die experimentelle Morphologie der Pflanzen. Leipzig u. Berlin 1908. S. 107.

[4]) Riehm, a. a. O. S. 313.

2. Das Wiederaufnehmen des Wachstums hängt vom Alter des etiolierten Blattes ab. Je älter das Blatt, um so geringeres Wachstum.

3. Im allgemeinen wächst dann der Teil am stärksten, der in der Entwicklung der jüngste ist, bezüglich das Wachstum am längsten beibehält.

4. Es gibt eine gewisse Grenze, jenseits welcher das Blatt das Wachstum nicht wieder aufzunehmen vermag.

5. Dadurch, daß das Blatt nur immer in bestimmten Teilen wieder wächst, wird eine abnormale Blattform hervorgerufen. Die einfachen Blätter mit basipetaler Entwicklung erreichen relativ größere Breite. Bei den zusammengesetzten Blättern bleiben die in der Entwicklung älteren Teile den jüngeren gegenüber in ihrer Ausbildung zurück; das gesamte Blatt erlangt nicht die normale Differenzierung.

6. Das Ergrünen des Blattes und das Wiederaufnehmen des Wachstums sind zwei vollkommen getrennte Dinge. Doch geht stets das Ergrünen der Wiederaufnahme des Wachstums voraus. Es braucht aber keineswegs mit dem Ergrünen eine Wiederaufnahme des Wachstums verbunden zu sein.

7. Die parallelnervigen Blätter der Monokotyledonen stellen im allgemeinen, wenn sie aus dem Dunkeln ans Licht gebracht werden, ihr Längenwachstum ein und suchen nur noch nahezu normale Breite zu erreichen.

Literaturnachweis.

Amelung, E., Über Etiolement. Flora 1894. S. 204.

Batalin, A., Über die Wirkung des Lichtes auf die Entwicklung der Blätter. Bot. Ztg. Bd. 29. 1871. S. 669.

Berthold, Untersuchungen zur Physiologie der Pflanzenorganisation. II. Teil. Leipzig 1904.

Borodin, Über die Wirkung des Lichtes auf einige höhere Kryptogamen. Bull. de l'Acad. des sciences de St. Pétersbourg. Bd. XII. 1868. S. 234.

Büsgen, M., Beobachtungen über das Verhalten des Gerbstoffes in den Pflanzen. Jenaische Zeitschr. f. Naturwissenschaften. Bd. 24. 1890. S. 11.

De Candolle, Physiologie végétale. Bd. III. 1832.

Detmer, W., Über Photoepinastie der Blätter. Bot. Ztg. Bd. 40. 1882. S. 787.

— Über Photoepinastie der Blätter. Jenaische Zeitschr. f. Naturwiss. Bd. 16. 1883. Sitzungsberichte. S. 24.

Dubbels, H., Über den Einfluß der Dunkelheit auf die Ausbildung der Blätter und Ranken einiger Papilionaceen. Inaug.-Diss. Kiel 1904.

Eberhardt, M., Actions de l'air sec et de l'air humide sur les végétaux. Comptes rendus des séances de l'académie des sciences. Bd. 31. 1900. S. 193.

— Influence du milieu sec et du milieu humide sur la structure des végétaux. Ebenda. S. 513.

Eichler, A. W., Zur Entwicklungsgeschichte des Blattes mit besonderer Berücksichtigung der Nebenblattbildungen. Inaug.-Diss. Marburg 1861.

Figdor, W., Über den Einfluß des Lichtes auf die Keimung der Samen einiger Gesneriaceen. Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 25. 1907. S. 582.

Fitting, H., Lichtperzeption und phototropische Empfindlichkeit, zugleich ein Beitrag zur Lehre vom Etiolement. Jahrb f. wiss. Botanik. Bd. 45. 1908. S. 83.

Frank, A. W., Lehrbuch der Botanik. Bd. 1. 1892.

Godlewski, E., Zur Kenntnis der Ursachen der Formänderung etiolierter Pflanzen. Bot. Ztg. Bd. 37. 1879. S. 81.

— Über die biologische Bedeutung der Etiolierungserscheinungen. Biolog. Zentralbl. Bd. 9. 1889/90. S. 481.

— Über die Beeinflussung des Wachstums der Pflanzen durch äußere Faktoren. Anzeiger der Akad. d. Wiss. in Krakau. 1890. S. 166.

— Die Art und Weise der wachstumsretardierenden Lichtwirkung und die Wachstumstheorie. Ebenda. S. 286.

Goebel, K., Organographie der Pflanzen. 1893.

— Einleitung in die experimentelle Morphologie der Pflanzen. Leipzig u. Berlin 1908.

Gräntz, F., Über den Einfluß des Lichtes auf die Entwicklung einiger Pilze. Inaug.-Diss. Leipzig 1898.

Heinricher, E., Beeinflussung der Samenkeimung durch das Licht. Wiesner-Festschrift. Wien 1908. S. 263.

Hofmeister, Allgemeine Morphologie der Gewächse. Leipzig 1868.

Jost, Über den Einfluß des Lichtes auf das Knospentreiben der Rotbuche. Ber. d. deutsch. bot. Ges. 1894. S. 194.

— Über die Abhängigkeit des Laubblattes von seiner Assimilationstätigkeit. Jahrb. d. wiss. Bot. Bd. 27. 1895. S. 403.

— Vorlesungen über Pflanzenphysiologie. 2. Aufl. Jena 1908.

Kinzel, W., Über den Einfluß des Lichtes auf die Keimung. „Lichtharte" Samen. Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 25. 1907. S. 269.

— Lichtkeimung, einige bestätigende und ergänzende Bemerkungen zu den vorläufigen Mitteilungen von 1907 und 1908. Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 26a. 1908. S. 631.

— Lichtkeimung, weitere bestätigende und ergänzende Bemerkungen zu den vorläufigen Mitteilungen von 1907 und 1908. Ebenda S. 654.

— Lichtkeimung, Erläuterungen und Ergänzungen. Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 27. 1909. S. 536.

Kraus, Carl, Pflanzenphysiologische Untersuchungen VI. Wachstum und Chlorophyllbildung. Flora 1875. S. 346.

— Über einige Beziehungen des Lichts zur Form- und Stoffbildung der Pflanzen. Flora 1878. S. 145.

Kraus, Gregor, Über die Ursachen der Formänderungen etiolierender Pflanzen. Jahrb. f. wiss. Botanik. Bd. 7. 1869—1870. S. 209.

Kühlhorn, Fr., Beiträge zur Kenntnis des Etiolements. Inaug.-Diss. Göttingen 1904.

Laage, Bedingungen der Keimung von Farn- und Moossporen. Bot. Zentralbl. Bd. 21. 1907. Beiheft.

Lehmann, E., Zur Keimungsphysiologie und -biologie von Ranunculus sceleratus L. und einigen anderen Samen. Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 27. 1909. S. 476.

— Neuere Untersuchungen über Lichtkeimung. Jahresber. d. Vereinigg. f. angew. Botanik. 8. Jahrg. 1910. S. 248.

Leitgeb, Die Keimung der Lebermoossporen in ihrer Beziehung zum Lichte. Sitz.-Ber. d. Kais. Akad. d. Wiss. Jahrg. 1876. Mathem.-naturw. Kl. Bd. 74. Abt. I. Heft 3.

Lothelier, M. A., Recherches sur les plantes à piquants. Revue générale de botanique. Bd. V. 1893. S. 480.

Mac Dougal, The influence of Light and Darkness upon Growth and Development. Memoirs of the New York Botanical Garden. Bd. II. 1903.

Massart, J., Comment les plantes vivaces sortent de terre au printemps. Bull. du Jardin Botanique de l'Etat à Bruxelles. 1902.

Mer, E., Recherches sur les anomalies de dimensions des entre-nœuds et des feuilles étiolées. Bull. de la société botanique de France. Bd. 22. 1875. S. 190.

Möbius, M., Über einige an Wasserpflanzen beobachtete Reizerscheinungen. Biolog. Zentralbl. Bd. 15. 1895. S. 1.

Münter, F., Beobachtungen über das Wachstum verschiedener Pflanzenteile. Bot. Ztg. Bd. 1. 1843. S. 69.

Noll, Über das Etiolement der Pflanzen. Sitz.-Ber. d. Niederrhein. Ges. f. Natur- und Heilkunde. 1901. S. 55.

Palladin, W., Transpiration als Ursache der Formänderung etiolierter Pflanzen. Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 8. 1890. S. 364.

— Eiweißgehalt der grünen und der etiolierten Blätter. Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 9. 1891. S. 194.

— Ergrünen und Wachstum der etiolierten Blätter. Ebenda. S. 229.

— Recherches sur la respiration des feuilles vertes et des feuilles étiolées. Revue générale de botanique. Bd. V. 1893. S. 449.

Pfeffer, W., Studien über Symmetrie und spezifische Wachstumsursachen. Arbeiten d. botan. Instituts in Würzburg. Bd. 1. 1874. S. 77.

— Pflanzenphysiologie. Bd. II. Leipzig 1904.

Prantl, H., Über den Einfluß des Lichtes auf das Wachstum der Blätter. Arbeiten d. botan. Instituts in Würzburg. Bd. 1. 1874. S. 371.

— Studien über Wachstum, Verzweigung und Nervatur der Laubblätter, insbes. der Dikotylen. Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 1. 1883. S. 280.

Rauwenhoff, P., Sur les causes des formes anomales des plantes qui croissent dans l'obscurité. Annales des sciences naturelles. 7. Serie. Botanique. Bd. V. 1878. S. 267.

Ricôme, H., Sur le développement des plantes étiolées ayant reverdi à la lumière. Comptes rendus. Bd. 31. 1900. S. 1251.

— Action de la lumière sur des plantes préalablement étiolées. Revue générale de botanique. Bd. 14. 1902. S. 26.

Richm, E., Beobachtungen an isolierten Blättern. Zeitschr. f. Naturwiss. Bd. 77. 1904. S. 311.

Sachs, J., Über den Einfluß des Tageslichts auf Neubildung und Entfaltung verschiedener Pflanzenorgane. Bot. Ztg. Bd. 21. 1863. Beil. z. Nr. 31/33.

— Wirkung des Lichts auf die Blütenbildung unter Vermittlung der Laubblätter. Bot. Ztg. 1865. S. 117.

— Lehrbuch der Botanik. 4. Aufl. Leipzig 1874.

— Gesammelte Abhandl. über Pflanzenphysiologie. I. Bd. Leipzig 1892.

Schumann, Praktikum für morphologische und systematische Botanik. Jena 1904.

Sonntag, P., Über Dauer des Scheitelwachstums und Entwicklungsgeschichte des Blattes. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 18. 1887. S. 236.

Sorauer, P, Der Einfluß der Luftfeuchtigkeit. Bot. Ztg. Bd. 36. 1878. S. 1.

Stahl, E., Über den Einfluß des sonnigen oder schattigen Standortes auf die Ausbildung der Laubblätter. Jenaische Zeitschr. f. Naturwiss. Bd. 16. 1883. S. 162.

Stebler, W. G., Untersuchungen über das Blattwachstum. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 11. 1878. S. 47.

Téodoresco, E. C., Action indirecte de la lumière sur la tige et les feuilles. Revue générale de botanique. Bd. XI. 1899. S. 369.

Vines, H., The Influence of Light upon the Growth of Leaves. Arbeiten d. bot. Instituts in Würzburg. Bd. 2. 1882. S. 114.

Vöchting, Über die Abhängigkeit des Laubblattes von seiner Assimilationstätigkeit. Bot. Ztg. Bd. 49. 1891. S. 113.

Vogt, C., Über Abhängigkeit des Laubblattes von seiner Assimilationstätigkeit. Inaug.-Diss. Erlangen 1898.

De Vries, H., Über die Bedeutung der Pflanzensäuren für den Turgor der Zellen. Bot. Ztg. Bd. 37. 1879. S. 852.

Wiesner, J., Formänderungen von Pflanzen bei Kultur im absolut feuchten Raume und im Dunkeln. Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 9. 1891. S. 46.

— Über die Ruheperiode und über einige Keimungsbedingungen der Samen von Viscum album. Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 15. 1897. S. 503.

Wisniewski, P., Beiträge zur Kenntnis der Keimung der Winterknospen der Wasserpflanzen. Krakau 1912. Extrait du Bull. de l'acad. des sciences de Cracovie.

Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen.

IV. Mitteilung.

Die Ernährung von Haematococcus pluvialis Flot.

Von **Ernst G. Pringsheim.**

I. Einleitung.

Zu den Mikroorganismen, die sich in der Natur auch dem bloßen Auge leicht bemerkbar machen, gehören u. a. einige Flagellaten und Volvocineen, die durch ihr massenhaftes Vorkommen charakterstische Färbungen hervorrufen. Diese Färbung ist bekanntlich bei Euglena sanguinea und Haematococcus pluvialis ein kräftiges Blutrot, das diese Arten besonders auffällig macht.

Über die Ursachen der plötzlichen Vermehrung dieser in Tümpeln so häufigen Organismen wissen wir vorläufig sehr wenig. So oft auch gerade Haematococcus zu allerlei Beobachtungen und Untersuchungen angeregt hat und so gut er morphologisch untersucht ist, so sind doch seine Ernährungsverhältnisse bis in die neueste Zeit nicht näher studiert worden. Zwar liegen von Wollenweber[1]), dem letzten und eingehendsten Monographen der Gattung Haematococcus auch einige Kulturversuche vor; ferner hat Reichenow[2]) die Bedingungen der Hämatochrombildung studiert; aber da beiden Reinkulturen nicht zur Verfügung standen, so wurde durch sie der Nährwert besonders organischer Stoffe nicht geklärt. Nur von Treboux[3]) liegt eine Angabe vor, daß es ihm gelungen sei, eine ganze Reihe von Algen, darunter auch Haematococcus pluvialis im Dunkeln mit organischen Säuren zur Vermehrung zu bringen. Gerade mit Haematococcus scheint Treboux

[1]) W. Wollenweber, Untersuch. über die Algengattung Haematococcus. Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch. Festschrift, Bd. XXVI. 1908. S. 238.

[2]) E. Reichenow, Untersuchungen an Haematococcus pluvialis nebst Bemerkungen über andere Flagellaten. Arbeiten aus dem kais. Gesundheitsamt, Bd. 33, Heft 1, 1909, S. 1.

[3]) O. Treboux, Organische Säuren als Kohlenstoffquelle bei Algen. Ber. d. deutsch. botan. Gesellsch. Bd. XXIII, 1905 S. 432.

nur einen Versuch, und zwar mit essigsaurem Kalium angestellt zu haben, der zu einem positiven Ergebnis geführt haben soll. Daß Bakterien und andere Organismen ganz ausgeschaltet waren, darf man wohl bezweifeln. Der Verf. gibt zwar an, seine Kulturen „unter Erfüllung der Methoden der Reinkultur" angestellt zu haben. Wenn wirklich absolute Reinkulturen aller genannten, teilweise schwer zu züchtenden Organismen vorgelegen hätten, so hätte man von ihnen wohl noch mehr gehört. So bleibt es also zweifelhaft, ob das konstatierte Erntegewicht wirklich der Vermehrung von Haematococcus zuzuschreiben ist. Nach den später zu schildernden Versuchen kann diese Annahme geradezu verneint werden.

Das Vorkommen von Haematococcus pluvialis in der Natur deutet auf gewisse Eigenheiten in seinen Ernährungsverhältnissen hin, die es nicht unlohnend erscheinen ließen, die Kulturbedingungen für sein Gedeihen zu prüfen. Dazu mußten Reinkulturen erzielt und deren Wachstum in anorganischen und organischen Nährlösungen studiert werden. Hieran schloß sich die Frage, ob eine Vermehrung im Dunkeln, also ganz heterotrophe Ernährung, möglich wäre. Ferner waren die Bedingungen für das Auftreten des roten Farbstoffes und für die Schwärmerbildung noch einmal an Reinkulturen nachzuprüfen.

Besondere Überraschungen waren freilich nicht zu erwarten, aber vor allem aus ökologischen Gründen ist es doch erwünscht, die Kulturbedingungen und Ernährungsansprüche möglichst vieler Mikroorganismen zu kennen.

Im Gegensatz zu den höheren Pflanzen ist ja die Ernährungsphysiologie der Kleinlebewesen recht mannigfaltig. Selbst innerhalb einer Gattung zeigen sich wesentliche Unterschiede. Gerade über Chlamydomonaden liegen nähere Angaben von Frank[1]) und Jacobsen[2]) vor, von denen der erstere nur Mineralsalzlösungen, der letztere auch organische Stoffe in Reinkulturen geprüft hat. Danach kann es nicht zweifelhaft sein, daß diese Haematococcus nahestehenden Formen entweder autotroph oder mixotroph sind. Vermehrung im Dunkeln ist nur für Chlorogonium euchlorum sichergestellt, bleibt aber immer gering. Für Haematococcus war eine weniger ausgeprägte Vorliebe für organische Stoffe zu erwarten als bei den zuerst von Jacobsen kultivierten Arten, die durch Anhäufung in faulenden Flüssigkeiten mit Erde als Impfmaterial gewonnen worden waren.

Dieser Auffassung entsprachen auch die Ergebnisse einer neueren

---

[1]) Th. Frank, Kultur und chemische Reizerscheinungen der Chlamydomonas tingens. Bot. Ztg. 1904. Bd. 62 S. 153.

[2]) H. C. Jacobsen, Kulturversuche mit einigen niederen Volvocaceen. Zeitschr. f. Bot. Bd. 2. 1910 S. 145.

Arbeit von Jacobsen[1]), welche erschien, als die meisten meiner Versuchsreihen abgeschlossen waren. Auf die Einzelheiten wird später zurückzukommen sein. Jacobsen isolierte Haematococcus bakterienfrei und prüfte einige anorganische und organische Nährlösungen, wobei sich herausstellte, daß autotrophe Ernährung in stark verdünnten Mineralsalzlösungen am besten wirkt. Auch über die Bedingungen der Haematochrombildung und der Entstehung von Zoosporen wurden einige Versuche angestellt. Jacobsens Ergebnisse kann ich bestätigen und in mehrfacher Hinsicht ergänzen.

II. Erzielung der Reinkultur und Wachstum auf Agar.

Haematococcus pluvialis tritt, wie schon der Name sagt, mit Vorliebe in Regenpfützen auf. Mein Material stammte auch aus einer solchen, und zwar waren es ausgetrocknete, tiefrote Massen, die, mit Wasser übergossen, nur vereinzelte Schwärmer entließen. Sehr zahlreich traten dagegen bewegliche Individuen auf, wenn eine hellgelbe Erdeabkochung damit geimpft wurde. Die Schwärmer sind zuerst grün und sammeln sich phototaktisch auf der Fensterseite des Gefäßes am Flüssigkeitsrande. Nach etwa 10—14 Tagen sieht man bei guter Beleuchtung an einem Nordfenster die ersten Zeichen einer Rotfärbung am obersten Rande der sich am Glase etwas in die Höhe ziehenden grünen Masse, wo also wohl Wasser- und Nährstoffmangel eintritt. Bald ist dann die Kultur rein rot.

Nach wiederholter Überimpfung in derartige Lösungen wurde von gut schwärmendem Material in Agargemische geimpft und von verschiedenen „Verdünnungen“ Petrischalen gegossen. Folgende Mischungen kamen zur Anwendung:

1. 2% Agar mit verdünnter Erdeabkochung
2. „ „ + 0,1% KNO_3 + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4
3. „ „ + 0,1% $(NH_4)_2HPO_4$ „ „
4. „ „ + 0,1% Asparagin „ „

Überall traten Kolonien von Haematococcus auf, die erst grün und je nach der Ernährung früher oder später braun, endlich rot wurden. 1. Auf Erddekoktagar waren die Kolonien klein, gelbbraun, bald rot. 2. Auf Nitratagar erst üppig grün, größer als bei 1., dann braun, zuletzt blutrot. Dieses letzte Stadium erreichten sie nach 3—4 Wochen. 3. Auf Ammonphosphatagar ähnlich, aber nie rein rot. 4. Asparaginagar bewirkte geringe Ausbreitung, sodaß die recht kräftigen Kolonien gewölbt aussahen. Erst waren sie grün, dann olivbraun.

---

[1]) H. C. Jacobsen, Die Kulturbedingungen von Haematococcus pluvialis. Folia microbiologica, 1912, Bd. I, S. 163.

Reine Kolonien konnten am besten in Nitratagar erzielt werden. Nach einmaliger Wiederholung des Plattengusses war die Reinkultur erzielt. Die Schwierigkeiten bei der Reinkultur, die Jacobsen[1]) durch Bakterien erwuchsen, welche den Aplanosporen anhafteten, konnten also durch Verwendung von Schwärmermaterial leicht weggeräumt werden.

Es wurden nun noch einige Agarmischungen geprüft, die in Reagenzröhren schräg erstarrt waren. Die Impfung geschah aus einer schwärmerhaltigen Reinkultur in Nährlösung mit Erdabkochung.

1. Nitratagar wie oben;
2. Ammonphosphatagar;
3. Agar mit Erdabkochung und Ammonsulfat;
4. Asparaginagar wie oben;
5. Heydenagar (0,2% Nährstoff Heyden filtr.)[2]);
6. Fleischextraktagar (0,1% Fleischextrakt);
7. Peptonfleischextraktagar (0,5% Fleischextrakt, 0,2% Pepton);
8. Mannitagar (wie für Azotobaktar, also 2% Mannit ohne besondere N-Quelle außer dem im Agar enthaltenen).

Das Ergebnis war nach 2—3 Wochen im Sommer folgendes: 1. Wachstum nicht sehr reichlich, im Kondenswasser grün, auf der Agarfläche bräunlich. 2. Mehr gewachsen, Sekundärkolonien zahlreicher, alles rein grün. 3. Ähnlich, aber an den trockenen Stellen rötlich. 4. Von dem Impfstrich aus wenig ausgebreitet, dicker, zunächst rein grüner, später olivgrüner, dann rotbrauner Streifen. 5. Ausgezeichnetes Wachstum, ähnlich wie bei 4, aber sehr bald braun, dann rein rot. 6. Wenig Vermehrung. 7. Sehr kleine, dicke, dunkelgrüne Flecke, die später olivgrün werden. 8. Ganz wenig, rein rot.

Zur Weiterzüchtung der Reinkulturen empfahl sich demnach besonders Heydenagar, der auch etwa auftretende Verunreinigungen besonders deutlich verrät, ferner Asparaginagar. Auf diesen Substraten wurde Haematococcus nun schon zwei Jahre ohne Schwierigkeit in Reinkultur erhalten. Auch alte, schon ziemlich trockene Kulturen gehen bei Impfung in geeignete Nährlösungen leicht an, und selbst mehrere Monate trockene Kulturen können durch Übergießen mit sterilem Wasser jederzeit zum Leben erweckt werden, sodaß Haematococcus sich als immer vorrätiger Laboratoriumsorganismus empfehlen dürfte, der z. B. zur Demonstration der Phototaxis besonders geeignet ist.

---

[1]) Jacobsen 1912 a. a. O. S. 176.

[2]) Vgl. III. Mitteilung. Diese Beitr. Bd. XII, Heft 1, S. 60.

III. Kultur in anorganischen Nährsalzlösungen.

Für Haematococcus pluvialis gibt Wollenweber[1]) an, daß er in der Natur an sehr gering konzentrierte Nährmedien angepaßt und dann gewöhnlich hämatochromreich sei. Damit stimmt das recht gute Wachstum in verdünnten, sicher sehr stickstoffarmen Erdeauszügen überein. Ferner schreibt der genannte Autor der Art vorwiegend autotrophe Lebensweise zu. Er hat gute Vermehrung unter Zurückgehen des Hämatochroms in Knopscher Nährlösung beobachtet. Auf den letzteren Punkt komme ich noch zurück. Reichenow[2]) verwendete die etwas einfachere Nährlösung von Molisch mit demselben Ergebnis. Haematococcus pluvialis kann also jedenfalls ohne organische Stoffe auf Grund der Kohlensäureassimilation gut gedeihen.

Ferner geht aus diesen Versuchen schon hervor, daß Nitrate geeignete Stickstoffquellen sind. Denn in der Beziehung stimmen die genannten Nährlösungen überein. Dagegen ist die Knopsche durch primäres Kaliumphosphat ganz schwach sauer, die von Molisch durch sekundäres basisch. Haematococcus scheint also an die Reaktion der Nährlösung keine besonderen Ansprüche zu stellen. In der Tat konnte ich bestätigen, daß innerhalb gewisser Grenzen schwach saure und basische Flüssigkeiten gleich gut sind, doch wird weniger Säure als Alkali ertragen.

Um weiter in die Nährsalzbedürfnisse von Haematococcus einzudringen, mußten aber die Lösungen variiert werden. Und zwar waren neben Nitraten auch Nitrite und Ammonsalze zu prüfen. Ferner war der Einfluß der Konzentration von Bedeutung, denn gerade die Fähigkeit, auch stärkere oder sehr verdünnte Lösungen auszunutzen, dürfte gewissen Mikroorganismen die schnelle Vermehrung und Überwucherung von Mitbewerbern ermöglichen.

Es hätte wenig Wert, die zahlreichen Versuche einzeln aufzuführen Ich will mich damit begnügen, die Hauptergebnisse wiederzugeben:

1. Von den Stickstoffsalzen hat Nitrit im Gegensatz zu Jacobsens[3]) Angaben nie irgend welche Vermehrung bewirkt. Ammonsalze werden eher noch etwas besser ausgenutzt als Nitrate. Daß Jacobsen[4]) das Gegenteil angibt, beruht auf der Nichtberücksichtigung der sonstigen Zusammensetzung der Nährflüssigkeit. Dabei spielt nämlich die Reaktion der Lösung insoweit eine Rolle, als z. B. der physiologisch basische Kalisalpeter eine bessere Vermehrung in neutraler bis schwacher saurer Lösung (0,02—0,05 % KH_2PO_4), das physio-

[1]) a. a. O. S. 280. [2]) a. a. O. S. 7.
[3]) H. C. Jacobsen, 1912, a. a. O. S. 170.
[4]) H. C. Jacobsen, 1912, a. a. O. S. 169.

logisch saure Ammonsulfat eine bessere in schwach basischer Lösung (0,02—0,05% K_2HPO_4) ergibt. Setze ich die Menge des K_2HPO_4 auf 0,01% herab wie Jacobsen, so finde ich auch, daß die Ammonsalze ungünstig wirken.

Von den Nitraten erwies sich sowohl das Calcium wie das Kaliumsalz in Konzentrationen bis zu 0,1% als günstig, größere Mengen wurden nicht vertragen. Dies gilt für Lösungen mit KH_2PO_4. War die Lösung schwach basisch, so mußte die Nitratkonzentration herabgesetzt werden, um Wachstum zu erlauben, und zwar bei KNO_3 bis zu 0,02%, bei $Ca(NO_3)_2$ bis zu 0,05%.

Als Ammonsalze verwendete ich hauptsächlich das Sulfat und Phosphat, ferner das schwer lösliche Ammoniummagnesiumphosphat. Gerade das letztere erwies sich als recht geeignet[1]). Ammonphosphat und -sulfat waren gleich günstig. Bei dem letzteren war umgekehrt als bei den Nitraten das Konzentrationsmaximum höher in Gegenwart des sekundären als des primären Phosphates, im ersteren Falle trat bei 0,1%, in letzterem bei 0,02% noch Wachstum ein, nicht aber bei höheren Konzentrationen. Es sind das Dinge, die sich aus der Veränderung der Reaktion in der Lösung erklären, deren Konstatierung aber doch nicht wertlos sein dürfte. Ammonnitrat bewirkte stets nur eine vorübergehende und schwache Entwicklung, wie das auch Jacobsen findet.

Eine einprozentige Lösung der verschiedenen Stickstoffsalze ergab nie ein Wachstum. Neben den genannten Phosphaten war noch 0,01—0,02% $MgSO_4$ und eine Spur Eisen zugegen. Ein Zusatz von Kalksalzen erwies sich nicht als notwendig, doch wurde deren eventuelle Entbehrlichkeit nicht durch besondere Versuche mit eigens gereinigten Substanzen und kalkfreien Gefäßen erhärtet. Eine größere Menge Calcium ist jedenfalls, wie auch Jacobsen[2]) findet, schädlich. Daraus erklärt sich die wenig günstige Wirkung von Calciumnitrat bei Mengen, die 0,05% überstiegen.

Es ergibt sich also, daß Haematococcus mit Nitraten und Ammonsalzen gedeihen kann, wobei die Reaktion der Lösung eine Rolle spielt. Sie darf im ganzen nach beiden Seiten von der Neutralität etwas abweichen, ohne zu schaden. Die Konzentration an Nährsalzen darf nicht zu hoch sein, sodaß also Wollenweber und Jacobsen recht haben, die eine Anpassung an nährstoffarme Standorte betonen.

Weitere Versuche mit mineralischen Nährlösungen finden sich in dem Abschnitt über die Bedingungen der Schwärmerbildung.

---

[1]) Vgl. I. Mitteil. Diese Beiträge, Bd. XI, Heft 2, S. 327.

[2]) Jacobsen, 1912, a. a. O. S. 167 f.

IV. Kultur in Lösungen mit organischen Stoffen.

Aus dem Vorkommen von Haematococcus in der Natur läßt sich für die Möglichkeit einer Ausnutzung organischer Stoffe höchstens das entnehmen, daß wahrscheinlich aus der Erde ausgelaugte Stoffe und nach Wollenweber[1]) Viehexkremente die Vermehrung fördern. Da aber der Autor keine Reinkulturen besaß, im Gegenteil sogar betont, daß er organische Substanzen erst durch Bakterien verarbeiten lassen mußte, ehe sie für Haematococcus brauchbar waren[2]), so ist es nicht klar, ob nicht die durch Fäulnis angereicherten anorganischen Nährstoffe die Vermehrung steigerten. Auch Reichenow hat nicht mit Reinkulturen gearbeitet. Dagegen erwiesen sich bei Jacobsen verschiedene andere Volvocineen, besonders Chlorogonium, als sehr dankbar für organische Stoffe, sie sind typisch mixotroph und verhalten sich darin ganz ähnlich, wie die früher von mir und anderen untersuchte Euglena gracilis.

Für Haematococcus pluvialis ist die Mixotrophie, wie gleich vorweggenommen sei, lange nicht so ausgeprägt, und eine gänzlich heterotrophe Ernährung im Dunkeln mit organischen Stoffen wie etwa bei Chlorogonium euchlorum und Euglena gracilis ließ sich nicht erreichen.

Die Versuche wurden so angestellt, daß Erlenmeyerkölbchen von 50 ccm Inhalt mit 25 ccm der verschiedenen Nährlösungen beschickt, dreimal im Dampftopf sterilisiert und nach der Impfung mit reinem Material aus Heydenagarröhrchen an einem Nordfenster aufgehängt wurden. Die Nährlösungen enthielten annähernd dieselben Stoffe wie die in ihrer Wirkung auf Blaualgen geprüften[3]); nämlich organische Säuren, höhere Alkohole, Kohlehydrate und verschiedene Stickstoffverbindungen.

A. Organische Säuren.

Treboux[4]) hat den Versuch gemacht, Haematococcus mit Essigsäure im Dunkeln zu ernähren. Das Ergebnis ist, wie oben betont, nicht ganz klar. Doch haben gerade die organischen Säuren schon mehrfach als geeignete Nährstoffe für mixotrophe Organismen gedient[5]).

Die Herstellung der Lösungen war die gleiche wie in der III. Mitteilung. Zunächst kamen die käuflichen Ammonsalze unter Zusatz

---

[1]) a. a. O. S. 284. [2]) a. a. O. S. 282.

[3]) Vgl. III. Mitteilung. Diese Beiträge, Bd. XII, Heft 1, S. 80 ff. Dort nähere Angaben über die verwendeten Substanzen u. a.

[4]) a. a. O. S. 438.

[5]) O. Richter, Die Ernährung der Algen, Leipzig 1911, S. 36 f.; H. Zumstein, Zur Morphologie u. Physiologie von Euglena gracilis, Jahrb. f. wissenschaftl. Bot., Bd. 34, 1900; sowie II. u. III. Mitteilung über Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen, diese Beiträge, Bd. XII, Heft 1.

von Calciumcarbonat zur Anwendung, später sorgfältig titrierte und mit Ammoniak neutralisierte Lösungen der freien Säuren. Von weiteren Salzen waren Kaliumphosphat und Magnesiumsulfat zugegen, sowie eine Spur Ferriphosphat, alles gelöst in doppelt destilliertem Wasser. Zum Vergleich diente je ein Kolben mit Ammoniummagnesiumphosphat oder Ammonsulfat als Stickstoffquelle. Die Versuche wurden mehrfach wiederholt, ohne daß kleine Änderungen in den anorganischen Nährsalzen wesentlichen Einfluß auf das Ergebnis gehabt hätten.

	$^1/_{200}$ Mol.	$^1/_{400}$ Mol.
Oxalsäure	+ ?	+
Essigsäure	—	+
Buttersäure	+ ?	+ ?
Äpfelsäure	+	+ +
Zitronensäure	+	+ +
Weinsäure	+ ?	+
Milchsäure	+ ?	+
$(NH_4)MgPO_4$	+	

Die Zeichen bedeuten: + + sehr gutes, + gutes, + ? recht mäßiges, — kein Wachstum.

Die anorganische Lösung, die zum Vergleich herangezogen wurde, blieb also nur hinter den schwächeren Lösungen von äpfelsaurem und zitronensaurem Ammon zurück. Auch Jacobsen[1]) fand, daß Äpfelsäure nicht ungünstig ist. Die stärkeren Lösungen erwiesen sich allgemein als ungünstiger als die schwächeren, besonders bei Essigsäure war der Unterschied sehr groß, da die $^1/_{200}$ molekulare Lösung gar keine Vermehrung gestattete.

Gleichartige, ins Dunkle gestellte Lösungen ergaben gar keine Entwicklung.

B. Höhere Alkohole.

Es wurde zunächst ein Versuch mit Mannit in den Konzentrationen 0,2, 0,1 und 0,05% neben Kalisalpeter als Stickstoffquelle angestellt, ohne daß sich eine Förderung oder Schädigung der Vermehrung ergeben hätte. In den weiteren Versuchen kam NH_4MgPO_4 in Anwendung und die Alkohole Glyzerin, Erythrit, Mannit und Sorbit in den Konzentrationen 0,2 und 0,05%. Auch hier war kein merklicher Einfluß zu beobachten. Dunkelkulturen waren ohne Erfolg.

C. Kohlehydrate.

Ein Versuch mit Glukose in den Konzentrationen 0,2, 0,1 und 0,05% neben KNO_3 ergab gutes Wachstum. Eine größere Versuchsreihe wurde mit Calciumnitrat als Stickstoffquelle angesetzt, wobei

[1]) Jacobsen, a. a. O. S. 179.

ohne Zucker die Vermehrung gering war. Hier ergab sich Förderung durch die verschiedenen Monosaccharide. Von solchen wurden geprüft: Glukose, Fruktose, Galaktose und Arabinose, alle in den Konzentrationen 0,5, 0,2 und 0,05%. Besonders Glukose und Fruktose bewirkten kräftige Vermehrung in einem mit der Konzentration abfallenden Maße. Von den beiden Pentosen waren dagegen die höheren Konzentrationen schon schlechter als die niederen, von denen nur 0,05% Arabinose ein leidliches Wachstum erlaubte, das aber nicht an das in den Lösungen der Hexosen heranreichte. Auch Jacobsen[1]) fand Förderung durch Glukose, betont aber, daß nichts davon verzehrt wurde.

Im Dunkeln erfolgte kein Ausschlüpfen und keine Vermehrung. Als die Kulturen nach zwei Monaten ans Licht gebracht wurden, entwickelten sie sich nur in den Hexoselösungen, in den anderen waren die geimpften Zellen, die aus einer braunrot gefärbten Asparaginagarröhre stammten, abgestorben.

Von Di- und Polysacchariden wurden Saccharose, Milchzucker, Maltose, Inulin, Dextrin, Glykogen und lösliche Stärke[2]) in 0,2 und 0,04prozentiger Lösung geprüft. Als N-Quelle diente NH_4MgPO_4, ferner waren 0,01% K_2SO_4 und eine Spur $Fe_2(PO_4)_2$ zugegen.

Keiner der Stoffe hemmte die Vermehrung ganz, aber keiner förderte deutlich gegenüber der Kultur ohne organische Stoffe. Dementsprechend war auch nachher nirgends eine Reduktion von Fehlingscher Lösung zu erzielen, wo sie nicht schon ohne Hydrolyse auftritt. Es scheint also, daß die geprüften Kohlehydrate ganz indifferent für Haematococcus sind. Eine Prüfung mit dem Indikator Nilblau ergab nirgends eine Säuerung.

Im Dunkeln keine Vermehrung.

D. Organische Stickstoffverbindungen.

Pepton, Leucin, Alanin, Glycocoll, Asparagin, Acetamid und Fleischextrakt wurden zu 0,4, 0,2, 0,1 und 0,01% mit $MgSO_4$ und K_2HPO_4 in Wasser gelöst. Zum Vergleich dienten 0,2- und 0,1-prozentige $Ca(NO_3)_2$-Lösungen, die sehr mäßiges Wachstum bewirkten. Demgegenüber war in verschiedenen der Lösungen mit organischen Stoffen mehr oder weniger üppige Vermehrung zu beobachten. Besonders Fleischextrakt (schwach sauer!) war sehr günstig. Bei den geringsten Konzentrationen von Glycocoll, Asparagin und Acetamid war die Vermehrung äußerst

---

[1]) H. C. Jacobsen, 1912, a. a. O. S. 178.

[2]) Amylum solubile von Merck; gekochte Lösung gibt mit JJK reinblaue, ungekochte lila Färbung. Fehling wird nicht reduziert. Lösung fast ganz klar.

spärlich. Bei Pepton erwies sich 0,4% als zu viel, bei Leucin war erst die geringste Konzentration gut. Alanin war in der höchsten Konzentration am günstigsten. Bei Glycocoll erwiesen sich alle Lösungen als etwa gleich förderlich.

Im Dunkeln trat kein Wachstum ein, dagegen entwickelten sich in den Fleischextraktkulturen Schwärmer, die sich allerdings allmählich zur Ruhe setzten, ohne sich weiter zu vermehren.

Diese eigenartige Wirkung des Fleischextraktes, mit dem auch am Lichte besonders üppige Kulturen erzielt werden konnten, forderte zu einer besonderen Untersuchung heraus. Es fragte sich, ob die im Fleischextrakt vorhandenen stickstoffhaltigen Verbindungen oder vielleicht die schwach saure Reaktion das Ausschlüpfen bewirkten. Deshalb wurde der folgende Versuch angesetzt:

1. 0,2% Fleischextrakt in dopp. dest. Wasser;
2. 0,1% Pepton + 0,05% KH_2PO_4;
3. 0,1% Leucin + 0,05% KH_2PO_4 + 0,05% $MgSO_4$;
4. Guanin Merck gesättigte Lösung + „
5. Acidum uricum Merck gesättigte Lösung + 0,05% $MgSO_4$;
6. 0,05% Acid. asparaginicum Merck + „
7. 0,2% Fleischextrakt, mit Na_2CO_3 neutralisiert, sodaß Lakmus gebläut, Curcuma nicht gebräunt wird;
8. 0,1% Pepton + 0,05% K_2HPO_4;
9. 0,1% Leucin + 0,05% K_2HPO_4 + 0,05% $MgSO_4$;
10. Guanin gesättigte Lösung + 0,05% K_2HPO_4 + 0,05% $MgSO_4$.

Von jeder Lösung kam ein Kölbchen an ein Nordfenster (22. XI. 13, also schwaches Licht), eins ins Dunkle.

Das Ergebnis war folgendes: Am Licht war das Wachstum fast überall gut, ganz gleich, ob primäres oder sekundäres Phosphat zugegen war. Nur bei Asparagin blieb das Wachstum aus und bei Leucin war es beidemale sehr gering, was den früheren Befunden entspricht.

Im Dunkeln waren schon nach vier Tagen in den meisten Kölbchen mehr oder weniger Schwärmer zu entdecken, am meisten in Fleischextraktlösung, und zwar in der neutralisierten mehr als in der sauren. Bei Asparagin und Leucin schlüpfte nichts aus. Bald verschwanden die Schwärmer wieder, und durch mikroskopische Prüfung konnte festgestellt werden, daß sie am Grunde der Kölbchen in Körnchen zerfielen.

Demnach hat das Ausschlüpfen im Dunkeln nichts mit der Reaktion der Lösung zu tun, sondern wird durch gewisse, an sich förderliche Stoffe hervorgerufen, die aber doch keine Heterotrophie ermöglichen.

Von Eiweißstoffen wurden zunächst Tropon, Nährstoff Heyden, Serum von Pferdeblut (Grübler), Albumin aus Eiweiß (Merck), Caseïn

puriss. (Merck) geprüft, und zwar in sehr kleinen Mengen in einer Nährlösung, die NH_4MgPO_4, K_2SO_4 und $Fe_2(PO_4)_2$ enthielt. Hier war also organisch und anorganisch gebundener Stickstoff zugegen. Zum Vergleich diente eine gleiche Lösung ohne Eiweißstoffe. Überall erfolgte gute Vermehrung. Die Unterschiede waren gering, nur die rein anorganische Lösung und die mit Serum blieben etwas zurück. Nach vier Wochen waren alle Kulturen mit Eiweißstoffen rot, die ohne Eiweiß rein grün. Sie rötete sich erst viel später.

Nun wurde ein Versuch angesetzt, in dem die Eiweißstoffe die einzige Stickstoffquelle abgaben, also außer ihnen nur noch K_2HPO_4 und $MgSO_4$ geboten wurde. Als Vergleichskultur kam eine mit NH_4MgPO_4 in Anwendung. Die Vermehrung war nicht so gut und gleichmäßig wie in dem vorigen Versuche. Nährstoff Heyden, Nucleïn und Guanin gaben bessere, Serum, Legumin und Tropon schlechtere Entwickelung als die anorganische Lösung. Hier trat allgemein in den Flüssigkeiten mit Eiweiß die Rotfärbung noch früher auf als in dem früheren Versuche. Aus den meisten Eiweißstoffen kann Haematococcus jedenfalls seinen Stickstoff nur schwer entnehmen.

Zusammenfassend ist zu sagen, daß Haematococcus im allgemeinen durch organische Stoffe kaum gefördert wird, nur Hexosen unter den Kohlehydraten und gewisse Stickstoffverbindungen machen hiervon eine Ausnahme. Fleischextrakt ist besonders günstig. Im ganzen stimmt dieses Ergebnis recht gut überein mit dem, was bei Blaualgen gefunden wurde[1]). Vielleicht hängt das mit den ähnlichen Lebensbedingungen zusammen. In beiden Fällen dienen periodisch austrocknende nasse Stellen als Wohnort, sodaß die im Staub vorhandenen oder aus der Erde gelaugten Stoffe zur Nahrung dienen müssen. Diese wirken daher auch auf Haematococcus und die untersuchten Cyanophyceen besonders günstig. Eine weitere Übereinstimmung bedeutet die Unfähigkeit zu ganz heterotropher Ernährung, wie sie z. B. bei den typisch mixotrophen Euglena gracilis, Chlorogonium euchlorum und niederen Algen möglich ist. Wir haben demgegenüber in Haematococcus pluvialis wieder eine in der Hauptsache autotrophe Form vor uns, was nicht ausschließt, daß doch gewisse organische Stoffe die Vermehrung fördern und sogar Schwärmerbildung im Dunkeln hervorrufen. Die von O. Richter[2]) geprüften braunen Süßwasserdiatomeen werden, wie es scheint, durch organische Stoffe mehr gefördert als meine Blaualgen und Haematococcus, können aber im Dunkeln auch nicht wachsen.

---

[1]) Vgl. III. Mitteilung, S. 84.

[2]) O. Richter, Zur Physiologie der Diatomeen (I. Mitteil.). Sitz.-Ber. der Wiener Akad. Math.-naturw. Kl. Bd. 115, Abt. I. 1906.

V. Die Bedingungen der Hämatochrombildung.

Nachdem Wollenweber[1]) beobachtet hatte, daß die Rotfärbung von Haematococcus bei Kultur in Knopscher Nährlösung allmählich zurückgeht und schließlich ganz verschwindet, schenkte Reichenow[2]) dieser Erscheinung seine besondere Aufmerksamkeit. Soweit das ohne Reinkultur möglich war, hat er die Sache völlig geklärt und durch schöne Abbildungen illustriert. Er ging von der Nährlösung von Molisch aus, die mit der Knopschen in ihrer Wirkung übereinstimmt, und suchte durch Fortlassen der einzelnen Salze den Bestandteil zu ermitteln, der die Rotfärbung verhindert. Es zeigte sich, daß ein Mangel an Phosphor und noch mehr an Stickstoff die Bildung des Hämatochroms veranlaßt. Dabei wirkte der Stickstoff aus Nitraten ebenso wie der aus Ammonsalzen. Auch mit organischen Stoffen, Eiweiß, Pepton, Erbsenwasser, wurde das gleiche Ergebnis, d. h. Unterdrückung der Rotfärbung, erzielt. Diese letzten Versuche sind aber natürlich wegen der Gegenwart von Bakterien nicht beweisend. So zeigte sich denn auch in Reinkulturen, daß die als Stickstoffquellen nicht sehr günstigen Eiweißstoffe viel frühere Bildung des Hämatochroms bewirkten als Nitrate, und diese wieder frühere als Ammonsalze. Immerhin bleibt das Hauptergebnis Reichenows erhalten, daß in Gegenwart gut assimilierbaren Stickstoffs rein grüne Haematococcuszellen gezüchtet werden können, die im Aussehen sehr abweichen von den an natürlichen Standorten meist gefundenen roten, denen ja auch die Gattung ihren Namen verdankt.

Einiges blieb immerhin zu dieser Frage noch zu ergänzen. Wollenweber bemerkte, daß in Knopscher Lösung ein Teil des roten Farbstoffes hartnäckig in der Zelle verharrt. Wurde dagegen ein Nähragar mit denselben Salzen verwendet, der mit Wasser überschichtet war, so ging das Hämatochrom bis auf den Augenfleck ganz verloren. Das gleiche Ergebnis liefern nach meinen Versuchen Ammonsalze, die überhaupt etwas bessere Stickstoffquellen für Haematococcus zu sein scheinen als Nitrate, ferner Pepton, Fleischextrakt, Alanin etc.

Besonders kräftig war die Rotfärbung in Erdeauszügen, die den natürlichen Medien ähnlich sein dürften. Darin fand schnell Vermehrung statt. Zuerst wurde die Flüssigkeit rein grün gefärbt, bald aber trat ein feiner roter Rand am Flüssigkeitsrande auf, dessen Färbung sich allmählich über die ganze Algenmasse erstreckte, und zwar so, daß ein roter Bodensatz und ein roter Streifen an der

---

[1]) W. Wollenweber, Das Stigma v. Haematococcus. Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch. Bd. XXV, 1907, S. 316, und Untersuchungen über die Algengattung Haematococcus. Ebenda Bd. XXVI, 1908, S. 282.

[2]) a. a. O. S. 7 ff.

Flüssigkeitsoberfläche erschien, während die Schwärmer noch grün waren.

Zu dieser Flüssigkeit wurden nun verschiedene Stickstoffverbindungen gesetzt, um zu sehen, ob sich die schnelle Rotfärbung verzögern oder unterdrücken ließe.

Das Ergebnis war, daß Kalisalpeter und noch mehr Ammonsulfat die Vermehrung begünstigten und gleichzeitig das Auftreten des Hämatochroms verzögerten, so daß bei Zusatz des Ammonsalzes überhaupt keine rein rote Farbe auftrat, sondern ein brauner Satz erzielt wurde. Noch üppiger war das Wachstum in einer Lösung, die neben Erdeauszug 0,1% Fleischextrakt enthielt. Dies war die beste aller geprüften Nährlösungen, in der die Zellen sich monatelang schwärmfähig erhielten und geradezu einen Brei lieferten, der aus rein grünen Zellen bestand. Die Membran war, wie immer bei reichlicher Ernährung kaum abstehend[1]). Hierdurch erklärt sich auch der Befund Strasburgers, dessen durch Übergießen des Rohmaterials mit Wasser erzielte Schwärmer zuerst alle hüllenlos waren und später — offenbar nach Verbrauch der Nährstoffe — die abstehende Zellulosemembran aufwiesen[2]).

Die Wirkung des Erdeauszuges beruht offenbar auf seiner die Vermehrung stark fördernden Eigenschaft im Verein mit Armut an assimilierbarem Stickstoff. Wie schon Reichenow betonte, ist Haematococcus nicht der einzige Organismus, der bei Stickstoffmangel eine Vermehrung der gelben und roten Farbstoffe auf Kosten des Chlorophylls aufweist. Sphaerella nivalis und Euglena sanguinea dürften sich genau so verhalten, wahrscheinlich gilt das gleiche für Chroolepus iolithus. Weniger ausgeprägt, aber auf denselben Ursachen beruhend, ist die Erscheinung bei Euglena gracilis und Cyanophyceen sowie Scenedesmaceen[3]), sodaß ihr wohl eine allgemeine, vielleicht ökologische Bedeutung zukommt.

Die Aplanosporenbildung hat direkt nichts mit der Rotfärbung zu tun. Es gibt sehr hämatochromreiche Schwärmer und nahezu rein grüne Ruhezustände. Das erstere ist z. B. in Erdeauszug, das letztere in Fleischextraktlösung zu beobachten. Doch wird im allgemeinen das Aufgeben des Schwärmzustandes ebenso wie die Rotfärbung an den Mangel des wichtigsten Nährelementes, des Stickstoffs, gebunden sein. Wie die anderen Stoffe dabei mitwirken, wurde nicht untersucht. Jedenfalls wird jeder ins Minimum gesetzte Nährstoff die reichliche Vermehrung und damit das Schwärmstadium beenden

[1]) Reichenow, a. a. O. S. 4.

[2]) E. Strasburger, Wirkung des Lichtes und der Wärme auf Schwärmsporen. Jena 1878. S. 10.

[3]) Vgl. II. Mitteilung, S. 43.

können. Auch hat Reichenow gefunden, daß der Mangel an Phosphor, wenn auch in geringerem Maße als der des Stickstoffs für die Rotfärbung von Bedeutung ist.

Wenn also die Gegenwart oder das Fehlen einer geeigneten Stickstoffquelle die deutlichste Wirkung auf die Hämatochrombildung ausübt, so sind doch andere Einflüsse nicht ohne Bedeutung. Das zeigen z. B. die Versuche mit Eiweißstoffen (vgl. S. 423), die auch bei Gegenwart einer anderen guten Stickstoffquelle ein beschleunigtes Rotwerden bewirkten. Entsprechend ist die Ansicht von Jacobsen[1]), der neben der Anwesenheit indifferenter Verbindungen, die als Wachstumsreize wirksam sein können, auch dem Entwicklungsstadium, der Temperatur, dem Licht und dem Austrocknen einen Einfluß zuschreibt, freilich ohne diese Vermutungen durch überzeugende Versuche zu belegen.

VI. Die Bedingungen der Schwärmerbildung.

Es ist seit langer Zeit bekannt, wie leicht und schnell die Dauerzustände von Haematococcus beim Übergießen mit Wasser Schwärmer entlassen. Auch der Zusammenhang dieser Erscheinung mit dem Vorkommen in Regenpfützen ist offensichtlich genug. Der natürliche Standort dürfte in Vertiefungen von Felsen und dergleichen vorliegen, in die allerlei Staub hineingeweht worden ist und die dann bei Wasserzufuhr einer schnell vorübergehenden Vegetation die geeigneten Bedingungen liefern. Ähnlich liegen die Verhältnisse in Dachrinnen. Doch kommt der Organismus auch in Bächen vor.

Strasburger[2]) fand, daß mit roten Haematococcusüberzügen versehene Steine nach dem Übergießen mit Wasser schon nach weniger als einem Tage Schwärmer gaben. Wurde das Material aus dem Wasser gehoben und nach 24 Stunden oder später frisch übergossen, so wurden weitere Zoosporen entlassen, und zwar reichlicher als nach bloßer Erneuerung des Wassers. Daraus geht schon hervor, daß das erste Mal noch viele Zellen unbeweglich blieben.

Näher untersucht wurden die Bedingungen der Schwärmerbildung von Freund[3]), einem Schüler von Klebs. Sein Material stammte aus einem im Freien stehenden, mit allerlei Detritus erfüllten und Wasser enthaltenden Glasaquarium. Wurden die roten Dauercysten mit filtriertem Wasser aus dem Aquarium übergossen, so blieben sie unverändert, auch wenn sie vorher getrocknet worden waren, in de-

---

[1]) Jacobsen, a. a. O. S. 194. [2]) E. Strasburger, a. a. O. S. 9.

[3]) Hans Freund, Neue Versuche über die Wirkungen der Außenwelt auf die ungeschlechtliche Fortpflanzung der Algen. Flora, 1904, Bd. 98, und Dissertation Halle 1907, S. 35.

stilliertem Wasser dagegen entließen sie zu einem gewissen Teil ihren Inhalt als Schwärmsporen. Der Verf. ging deshalb so vor, daß er das Aquariumwasser benutzte und ihm die Nährsalze der Knopschen Lösung zusetzte. Es stellte sich heraus, daß dadurch eine reichliche Schwärmerbildung veranlaßt wurde, die lebhafter war als in destilliertem Wasser, und zwar erwiesen sich die Nitrate als der allein wirksame Bestandteil. Denselben Einfluß hatten ferner Nitrite und Ammonsalze, sodaß es also die Stickstoffzufuhr war, auf die es ankam. Sie bewirkte gleichzeitig ein Zurückgehen des Hämatochromgehaltes.

Einige Versuche in der vorliegenden Frage hat auch Jacobsen[1]) angestellt. „Durch mit destilliertem Wasser unter Zusatz verschiedener Verbindungen angestellte Versuche konnte nachgewiesen werden, daß ein massenhaftes Ausschwärmen und also auch eine kräftige Teilung der Aplanosporen nur stattfindet, wenn in dem für das Übergießen benutzten Wasser sämtliche Elemente: N, P, S, K und Mg zu gleicher Zeit vorhanden sind.“ Der Gegensatz dieser Beobachtung zu den Jacobsen unbekannten Versuchen von Freund ist, wie ich zeigen werde, nur scheinbar und erklärt sich dadurch, daß der eine die Kulturflüssigkeit, der andere destilliertes Wasser verwendet hat.

I. Um zunächst die Wirkung reinen Wassers auf die Ruhezustände zu studieren, ging ich so vor, daß ich verschiedenartige Kulturen mit Schwärmern erst durch Seidengaze kolierte, um die Flöckchen unbeweglicher Zellen möglichst zu entfernen, dann die Schwärmsporen sich phototaktisch ansammeln ließ und das so gewonnene, aus lauter beweglichen Zellen bestehende Material auf Papierfilterchen brachte. Auf diesen wurde es ganz langsam im Laufe von drei Tagen getrocknet. Die Farbe der Zellen änderte sich dabei nicht. Nun wurden die am kräftigsten gefärbten Stücke der Filter mehrfach mit reinstem destilliertem Wasser gewaschen und dann in mit Chromschwefelsäure gereinigte Erlenmeyerkölbchen aus Jenenser Glas getan und mit doppelt destilliertem Wasser übergossen.

Es kam Material aus folgenden Kulturen zur Anwendung:

1. Vier Monate alte Kultur mit 0,5% Glukose und 0,1% $Ca(NO_3)_2$. Schwärmer rein grün.
2. Ebenso mit Fruktose. Schwärmer rotbraun.
3. Zwei Monate alte Kultur mit 0,04% Inulin und wenig Ammoniummagnesiumphosphat. Schwärmer rein grün.
4. Vier und einhalb Monate alte Kultur mit $^1/_{200}$ Mol. weinsaurem Ammon. Rein grün.

---

[1]) H. C. Jacobsen, Die Kulturbedingungen von Haematococcus pluvialis. Folia microbiologica 1912, Bd. I, S. 172.

5. Vier Monate alte Kultur mit Erdabkochung und Kalisalpeter, rotbraun.
6. Material aus vier und einhalb Monate alten Heydenagarröhrchen. Dauerzellen dunkelrot, möglichst rein abgehoben.

Nach spätestens 14 Tagen hatten sich überall Schwärmer gebildet, die keine Veränderung der Farbe aufwiesen. Doch waren sie in allen Kulturen spärlich. Der Versuch zeigt, daß durch bloßes Eintrocknen unbeweglich gewordene Zellen in Wasser ohne Nährstoffe nicht viele, aber regelmäßig Schwärmsporen bilden.

Ein Eintrocknen während der kräftigsten Entwicklung wird auch in der Natur oft genug vorkommen, nur daß dann bei Wasserzufuhr die auskristallisierten Nährsalze wieder gelöst werden und ein weit reichlicheres Ausschwärmen erlauben. Bleibt der Standort aber feucht, so gelangen schließlich doch alle Zellen zur Ruhe. Hierfür kommen zwei Ursachen in Betracht, entweder Mangel an lebenswichtigen Elementen oder Anhäufung schädlicher Stoffwechselprodukte. Es fragt sich nun, ob für den auf so verschiedene Weise in den Dauerzustand übergegangenen Organismus jedesmal dieselben Bedingungen zur Wiedererweckung geeignet sind.

Um nun in diese Frage einzudringen, suchte ich zunächst einen bestimmten Nährstoff durch stufenweise Verminderung seiner Menge ins relative Minimum zu setzen, während die anderen in möglichst optimaler Konzentration geboten wurden. Man durfte dann annehmen, daß bei der geringsten, eben noch Entwicklung zulassenden Menge des abgestuften Nährsalzes die Ursache für das Aufgeben der Beweglichkeit im Mangel eben dieses Stoffes zu suchen war. Es mußte sich dann zeigen, ob nur durch Zufuhr des fehlenden Nährstoffes oder auch durch andere Ursachen ein neues Ausschwärmen zu bewirken war.

II. Zunächst wurde die Stickstoffverbindung als abzustufendes Nährsalz gewählt. Neben 0,05% K_2HPO_4, 0,01% $MgSO_4$, 0,005% $CaSO_4$ und Spur $FeSO_4$ kamen folgende Konzentrationen von Ammonsulfat und Kalisalpeter zur Anwendung:

	0,5%	0,1%	0,01%	0,001%
KNO_3	1	2	3	4
	5	6	7	8
$(NH_4)_2SO_4$	9	10	11	12
	13	14	15	16

Von jeder Lösung also 2 Kölbchen mit 50 ccm Flüssigkeit.

Zuerst entwickelten sich die Kulturen 10—12 und 14—16, von denen aber die mit 0,001% Ammonsulfat bald etwas zurückblieben und einen braunen Rand an der Flüssigkeitsoberfläche ergaben. Von

den Nitrat-Kulturen gingen die mit der schwächsten Konzentration zuerst an. Schließlich wurde mit Ammonstickstoff überall Entwicklung erzielt, die aber in der höchsten Konzentration gering war, auch verloren die Zellen allmählich die Farbe, während mit Nitrat 1, 2, 5, 6 steril blieben und 4 und 8 wenig bräunlich aussehende Dauerzellen am Wasserrande aufwiesen.

Als alle Schwärmer zur Ruhe gekommen waren, wurden am 20. April folgende Zusätze zu den Kulturen gegeben:

Zu 4 und 8 je 0,01% KNO_3,
„ 12 „ 16 „ „ $(NH_4)_2SO_4$,
„ 11 „ 15 „ „ $MgSO_4$,
„ 9 „ 13 „ „ K_2HPO_4,

und zwar wurden diese Mengen in je 20 ccm sterilisierter Lösung zugefügt. Da nämlich die Kulturen eingedunstet waren und nur noch etwa 40 ccm Lösung enthielten, mußte soviel genommen werden, um die trockenen Ränder sicher unter Wasser zu setzen. Es kamen demnach je 20 ccm 0,03 prozentiger Lösungen zur Anwendung, die bei der Verdünnung auf 60 ccm 0,01% ergaben. Zu den schwächsten Nitratnährlösungen kam Nitrat, zu den Ammonkulturen Ammonsulfat. Die anderen dienten zur Kontrolle.

Schon nach vier Tagen war das Ergebnis klar. Alle neu mit Stickstoff versehenen Kulturen ergaben eine frische Entwicklung, die anderen keine, trotzdem mindestens 11 u. 15 reichlichere Algenmengen enthielten als jene. Als sich das nicht weiter änderte, wurde zu 11 und 9 je eine kleine Menge gefälltes reinstes Calciumcarbonat, zu 15 und 13 0,01% Ammoniummagnesiumphosphat gesetzt. Jetzt zeigte sich etwas neues. Die Kultur 9 wies bald einen hübschen Rand von Schwärmern auf, während 11 nur ganz wenig bewegliche Zellen enthielt. Umgekehrt war die Entwicklung in Kultur 13 minimal, in 15 etwas besser. Also bei zuviel Ammonsulfat hat das Calciumcarbonat gut gewirkt, bei zu wenig das Ammoniummagnesiumphosphat. Letzteres erklärt sich ungezwungen aus der Stickstoffzufuhr, ersteres bedarf einer besonderen Erklärung, die offenbar dadurch zu geben ist, daß die durch Verbrauch des Ammons frei werdende Schwefelsäure hier die Entwicklung gehemmt hat, durch das Calciumcarbonat aber neutralisiert wurde, wodurch die Möglichkeit eines neuen Wachstums gegeben war. Wir haben also eine Ergänzung zu dem schon früher von mir ausgesprochenen Satz: „Das Fehlende wird ergänzt, und der Organismus erwacht zu neuem Leben“ [1]). Man muß hinzufügen, das Störende wird fortgeschafft, und die Entwicklung kann weitergehen.

---

[1]) E. G. Pringsheim, Kulturvers. mit chlorophyllführenden Mikroorganismen. II. Mitteil., Zur Physiologie der Euglena gracilis. Diese Beitr., Bd. XII, 1913, S. 46.

Ganz entsprechende Ergebnisse zeitigten die Versuche, in denen abnehmende Mengen des Phosphates neben Ammonsulfat als Stickstoffquelle geboten wurden.

III. Es kamen zur Anwendung 0,1% $(NH_4)_2SO_4$, 0,01% $MgSO_4$, 0,005% $CaSO_4$, Spur $FeSO_4$ und dazu von K_2HPO_4 in %:

0,05	0,01	0,005	0,0025	0,001	0,0005	0,00025	0,0001
1	2	3	4	5	6	7	8
9	10	11	12	13	14	15	16
17	18	19	20	21	22	23	24
25	26	27	28	29	30	31	32

Je 4 Kölbchen zu 25 ccm.

In allen Kulturen trat eine Entwicklung ein, die aber in den niedersten Konzentrationen sehr gering war und eine deutliche Abstufung zeigte. Einigermaßen günstig war die Vermehrung überhaupt nur bei 0,05% K_2HPO_4, hier überall kräftig grün mit einem allmählich rot werdenden Rand. Die übrigen Kulturen wurden, von den niedersten Konzentrationen beginnend, nach und nach farblos, was, wie schon in Versuch II und auch später noch als Anzeichen der so schädlichen Säurebildung erkannt wurde.

Als nach etwa sechs Wochen auch die Kulturen mit der höchsten Phosphatgabe, in denen die Säure zum Teil durch deren basische Reaktion neutralisiert war, keine Schwärmer mehr aufwiesen, wurden ähnlich wie früher Zusätze gemacht. Und zwar bekamen:

die Kulturen 1 u. 2 und 9 u. 10 0,01% K_2HPO_4,
„ „ 17 „ 18 „ 25 „ 26 „ $CaCO_3$.

Schon nach vier Tagen kam in 17 und 25, nach sieben Tagen in 18 und 26 Leben und Bewegung. Der bloße Zusatz von Phosphat, der bei 2 und 10 eine Vermehrung desselben auf das Doppelte, nicht aber auf die Höhe der anderen Kulturen bewirkte, hatte nichts vermocht. Nun erhielten

1 und 2 noch 0,01% $CaCO_3$,
9 „ 10 wenig NH_4MgPO_4.

Das Calciumcarbonat bewährte wieder seine fördernde Wirkung. Der Zusatz von Ammoniummagnesiumphosphat hatte bei 10 eine leidliche, bei der durch reichlichere Entwicklung schon stärker saueren Kultur 9 eine schwache Vermehrung zur Folge.

Man muß daraus den Schluß ziehen, daß die Säuerung durch Verbrauch der Base aus dem Ammonsulfat die Entwicklung gehemmt und die Bildung von Dauerzellen bewirkt hat, was durch genügende Mengen von sekundärem Phosphat bis zu einem gewissen Grade vermieden oder verzögert werden kann. Dadurch kommt allerdings der Einfluß der Verminderung des Phosphorgehaltes der Lösung nicht klar

heraus. Dafür aber zeigt sich um so deutlicher die Entwicklungserregung durch Abstumpfung der Säure mit Calciumcarbonat.

IV. Dem weiteren Studium dieser Erscheinungen diente der folgende Versuch, der genau so angesetzt wurde wie der vorige, bis darauf, daß hier nur 0,02% Ammonsulfat geboten wurden, weil der Versuch II gezeigt hatte, daß diese Konzentration annähernd die günstigste ist.

Die Parallelkulturen entwickelten sich wieder mit befriedigender Gleichartigkeit. Die beste Vermehrung trat jetzt aber nicht in den höchsten Phosphorkonzentrationen, sondern bei 0,01% auf. Bei noch geringeren Mengen wurde das Wachstum immer geringer, bei 0,0001% war es äußerst schwach. Auch hier war wieder die Entfärbung in den niedersten Stufen zuerst zu beobachten und schritt nach den höheren fort. Nach 14 Tagen war in allen Kulturen mit weniger als 0,0025% K_2HPO_4 alles in Ruhe. Es wurden nun Zusätze gemacht, bei

6, 7, 8 Spur $Fe_2(PO_4)_2$,
14, 15, 16 „ $Ca_3(PO_4)_2$,
22, 23, 24 „ $CaCO_3$,
30, 31, 32 „ NH_4MgPO_4.

Nach weiteren fünf Tagen war ein Erfolg zu sehen: 6: Ganz wenig grüne Schwärmer, 7: Grünes Häutchen und Rand, 8: Nichts, 14: Stärkere grüne Haut und Schwärmer, 15 u. 16: Ganz schwache grüne Haut, 22—24: Ganz wenig Schwärmer, 30 u. 31: Grüne Haut und Schwärmer, 32: Nichts; 14 u. 30 entwickelten sich am besten. Die Kulturen mit der geringsten Phosphatmenge waren offenbar schon zu stark geschädigt gewesen. Das schwer lösliche Eisenphosphat hatte noch nicht viel genützt, später wurde die Entwicklung aber gut; das Carbonat dagegen half nichts. Hier ist also der Einfluß der Ergänzung des mangelnden Phosphors ganz deutlich.

Wo von vornherein mehr Phosphat zugegen gewesen war und daher eine üppigere Entwicklung stattgefunden hatte, wirkte dagegen wieder nur Abstumpfung der Säure entwicklungserregend. Außer mit $CaCO_3$ wurde das auch mit MgO und KOH geprüft. Ein Tropfen Kalilauge z. B. genügte, um in einer der Kulturen mit 0,05% K_2HPO_4 die stillgestandene Entwicklung nach weniger als zwei Tagen wieder anzuregen.

Obgleich sich derartige Versuche noch sehr viel weiter ausbauen ließen, möge das angeführte genügen. Es ist daraus klar ersichtlich, wie gut sich gerade Haematococcus dazu eignet, einen Einblick in die Bedeutung der Nährlösungsbestandteile zu gewinnen und die Ursachen für eine Störung der Entwicklung zu ermitteln. Für das Übergehen in den Ruhestand können somit sehr verschiedenartige Gründe ausschlaggebend sein, z. B. Wasserentziehung, Säurebildung, Mangel eines lebenswichtigen Elementes. Was an dem Stillstand

schuld war, läßt sich dann aus der Möglichkeit eines neuen Aufblühens ersehen. Daß z. B. Wasser so oft Schwärmerbildung hervorruft, „hat seinen Grund namentlich in der Entfernung gewisser hemmender Stoffe aus der Umgebung der Cysten", wie das schon Freund[1]) vermutet. Wenn dieser dagegen Stickstoffverbindungen besonders wirksam zur Anregung der Entwicklung findet, so wird der Grund hierfür in der Stickstoffverarmung seines Aquariumwassers gelegen haben, während die anderen Nährelemente zur Genüge vorhanden gewesen sein dürften, wie das unter den geschilderten Bedingungen an sich sehr wahrscheinlich ist. Tatsächlich sind, wie Jacobsen[2]) richtig betont, alle Nährelemente zur Erzielung reichlichen Schwärmens notwendig. Freund hat also nur einen Sonderfall vor sich gehabt, der freilich in der Natur sehr häufig sein dürfte, denn Haematococcus bevorzugt offenbar stickstoffarme Standorte, womit, wie gezeigt, seine meist kräftig rote Farbe zusammenhängt. Allerdings darf dieses Anzeichen nicht überschätzt werden, denn eben durch diese rote Farbe macht der Organismus sich auffällig, an anderen Standorten wird er oft übersehen.

Das Ergebnis, daß die Beseitigung der die Unterbrechung der Entwicklung bewirkenden Hemmungen neue Schwärmerbildung bewirkt, möge mit dem Befunde von Glade[3]) verglichen werden. Dieser fand, daß die Sporen von Cylindrospermum dann auskeimen, wenn ihnen allein der vorher ins Minimum gesetzte Nährstoff geboten wird, durch dessen Mangel die Bildung der Dauerzellen hervorgerufen worden war. Ob diese Erfahrungen verallgemeinert werden dürfen, müssen neue Untersuchungen zeigen.

VII. Allgemeines.

Versuchen wir, die Erfahrungen, die man bisher bei der Kultur chlorophyllführender Mikroorganismen gesammelt hat, vergleichend zusammenzustellen, so können wir einige allgemeine Regeln auffinden.

Die erste ist, daß auch diejenigen Formen, die durch organische Stoffe gefördert werden, doch einer rein autotrophen Ernährung fähig sind. Bisher liegt kein einziger Fall vor, der zwingend als Ausnahme gedeutet werden müßte. Als ausgesprochen mixotroph dürfen Chlorogonium euchlorum, Euglena gracilis und gewisse kleine Diatomeen gelten. Sie wachsen alle in mineralischen Nährlösungen. Nur für Navicula minuscula gibt O. Richter[4]) an, daß sie zwar auf Nähr-

[1]) Hans Freund, a. a. O. S. 49. [2]) Vgl. S. 427.

[3]) R. Glade, Zur Kenntnis der Gattung Cylindrospermum. Diese Beiträge 1914, Bd. XII, Heft 2, S. 333.

[4]) O. Richter, Zur Physiologie der Diatomeen (I. Mitt.). Sitz.-Ber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien. Mathem.-naturw. Kl. Bd. CXV, Abt. I, 1906.

salzagar, nicht aber in den entsprechenden Lösungen ohne Agar gedeihe. Wahrscheinlich haben Wasser oder Nährsalze irgendwelche schädigende Substanzen enthalten, die durch den Agar entgiftet werden. Nach meinen Erfahrungen wachsen die leicht kultivierbaren kleinen Navicula- und Nitzschiaarten leicht in sorgfältig hergestellten anorganischen Lösungen mit doppelt destilliertem Wasser. Für Blaualgen haben ich und meine Mitarbeiter gleichfalls zeigen können, daß etwa zehn kultivierte Arten autotroph wachsen. Bei ihrer Ernährung spielen sogar organische Stoffe gar keine Rolle. Haematococcus verhält sich ähnlich. Eine besondere Neigung besteht noch, für Desmidiaceen ebenso wie früher für Cyanophyceen einen Bedarf an organischen Stoffen anzunehmen, eine Auffassung, die durch Versuche von Andreesen[1]) eine Stütze bekommen zu haben scheint. Doch konnte ich schon in der ersten Mitteilung zeigen, daß eine Closterium-, eine Cosmariumart und die Mesotaeniacee Cylindrocystis mit geeigneten mineralischen Lösungen vorlieb nehmen. Das gleiche zeigte sich in neuen, im hiesigen Institut vorgenommenen Versuchen mit anderen Desmidiaceen- und Mesotaeniaceenarten, von denen weit reichlichere und gesundere Kulturen erzielt wurden als es Andreesen gelang. Es bleiben somit wohl nur noch Chlamydomonas variabilis und Carteria ovata übrig, die Jacobsen[2]) nur mixotroph, nicht aber heterotroph oder autotroph ernähren konnte. Vielleicht liegt der Grund für das Versagen in mineralischen Nährlösungen an dem zu hohen Sauerstoffgehalt der Flüssigkeit. Derartige Schädigungen kommen nach meinen Erfahrungen vor, ein Umstand, der bisher zu wenig beachtet worden ist. Sonst ist der Grund des Mißlingens autotropher Kulturen vielfach in Schwermetallspuren des destillierten Wassers, ungeeigneter Konzentration oder Reaktion der Lösung zu suchen. Für derartige Einflüsse sind viele Organismen sehr empfindlich. Agar oder andere kolloidale Stoffe und auch gelöste organische Substanzen können unter Umständen die Wirkung aller dieser Hemmungen ausgleichen.

Die zweite allgemeine Regel, die ich aufstellen möchte, lautet, daß als Stickstoffquelle wohl überall Ammonsalze und Nitrate gleich geeignet sind. Das ist eigentlich auffallend, aber die Erfahrung lehrt es. Molisch und Benecke zeigten es für Grünalgen[3]). Für Cyanophyceen, Euglena gracilis, Nitzschia palea, ja auch für die farblose Nitzschia putrida, dann für Haematococcus und einige andere Chlamydomonadaceen sowie für Desmidiaceen und Mesotaeniaceen gilt das

[1]) A. Andreesen, Beiträge zur Kenntnis der Desmidiaceen. Flora 1909, Bd. 99, S. 1.

[2]) H. C. Jacobsen, Kulturversuche mit einigen niederen Volvocaceen. Zeitschr. f. Bot., 1910, Bd. 2, S. 181.

[3]) Vgl. O. Richter, Die Ernährung der Algen. Leipzig 1911. S. 56 ff.

gleiche. Allerdings kommt es bei Versuchen zur Erprobung der geeigneten Stickstoffquelle nicht nur auf diese, sondern auch auf die sonstige Zusammensetzung der Lösung, besonders ihre Reaktion, an. Da eine Anhäufung von OH- und besonders H-Ionen schädlich zu sein pflegt, muß für deren Neutralisation gesorgt werden. Aus diesem Grunde sind fast überall von den Nitraten das Kalksalz, von den Ammonverbindungen das sekundäre Phosphat am geeignetsten, weil dabei keine stark dissoziierten Verbindungen zurückbleiben. Werden aber die physikalisch-chemischen Verhältnisse in der Lösung berücksichtigt, so gelingt es wohl stets, mit beiden Arten von Stickstoffverbindungen gute Kulturen zu erzielen.

VIII. Zusammenfassung.

1. Reinkulturen von Haematococcus sind bei Verwendung von Zoosporen durch Plattenguß mit Salpeteragar leicht zu gewinnen und auf Heyden- oder Asparaginagar weiter zu züchten.

2. Autotrophe Ernährung gelingt mit Ammonsalzen und Nitraten, aber nicht mit Nitriten. Die Reaktion darf nach beiden Richtungen ein klein wenig von der Neutralität abweichen, doch wird weniger Säure als Alkali vertragen. Die Eignung von Ammonsalzen und Nitraten ist je nach der Reaktion der Lösung verschieden.

3. Von organischen Stoffen sind die Hexosen und einige Stickstoffverbindungen förderlich. Besonders günstig wirken Fleischextrakt und Erdeauszug. Höhere Alkohole, organische Säuren, Pentosen, Polysaccharide und einige Aminosäuren haben kaum einen Einfluß. Im ganzen ist die Schädlichkeit der meisten geprüften organischen Stoffe gering, aber auch ihr Nährwert beschränkt. Kultur im Dunkeln gelang nicht.

4. Die Bildung des Hämatochroms wird hauptsächlich durch einen Mangel an ausnützbaren Stickstoffverbindungen veranlaßt und ist besonders intensiv in Erdeauszügen. Durch Ammonsalze, Nitrate und assimilierbare organische Stickstoffverbindungen wird die Rotfärbung verzögert, durch die ersten am meisten, durch die letzten am wenigsten.

5. Für die Ursachen der Schwärmerbildung ist die Beschaffenheit der Dauerzellen ausschlaggebend. Hat Nährstoffmangel das Aufgeben der Beweglichkeit verursacht, so wirkt die Zufuhr des fehlenden Nährstoffes, war das Austrocknen schuld, so genügt Übergießen mit Wasser, haben sich schädliche Stoffwechselprodukte gebildet, so müssen diese fortgeschafft werden, um Schwärmerbildung hervorzurufen.

6. Für chlorophyllführende Organismen dürfte allgemein autotrophe Ernährung mit Nitraten sowohl wie mit Ammonsalzen möglich sein.

Aus der Chirurgischen Klinik der Universität zu Königsberg Pr.
(Dir. Geheimrat Prof. Dr. Friedrich.)

Über den Einfluß des Quecksilberdampflichtes auf die Keimung und das erste Wachstum von Pflanzen.

Von **Dr. Walther Carl,** Privatdozent und Assistent der Klinik.

(Mit Tafel VII.)

Nachfolgende kleine Studie ist an anderer Stelle in einer medizinischen Zeitschrift publiziert worden. Da sie im Hinblick auf die Auswahl des Versuchsobjektes auch für die Pflanzenphysiologie nicht ohne Interesse sein dürfte, möchte ich es auf Anraten von Herrn Prof. Mez-Königsberg wagen, sie auch fachbotanischen Kreisen, denen die medizinischen Zeitschriften schwerer zugänglich sind, mitzuteilen.

Während über den Einfluß des Lichtes überhaupt auf die Einleitung der Keimung und das erste Wachstum genaue Mitteilungen vorliegen, ist man über die isolierte Wirkung der einzelnen Strahlenqualitäten nach dieser Richtung sehr im unklaren, man weiß z. B. nicht, ob der Ausfall einzelner Strahlengruppen etwa eine funktionelle Schädigung zur Folge hat. Seitdem wir in der Quecksilberdampflampe (Kromayers Quarzlampe) eine Lichtquelle besitzen, die uns fast unvermischt eine Fülle ultravioletten Lichtes liefert, ist es ohne Schwierigkeit möglich, wenigstens diese Strahlenqualität auch für botanische Experimente zu verwenden. Den meinen ähnliche Versuche an Pflanzen liegen, wenn man die bakteriologischen Studien hier nicht miteinbezieht, nur in spärlicher Zahl vor. Nach Nogier ist der Einfluß des konzentrierten ultravioletten Lichtes auf die Pflanzen ungünstig. Nogier hat mit ausgewachsenen Exemplaren von Geranium, Camatia esculenta und mit Bohnen experimentiert und ist zu dem Resultat gekommen, daß durch Bestrahlung mit ultraviolettem Licht das Wachstum und das Blühen der Pflanzen aufgehalten wird. Magnus, der mit Filtriervorrichtungen arbeitete, ist zu anderen Resultaten gekommen.

Die Versuche, über die im folgenden berichtet werden soll, beziehen sich auf den Einfluß der künstlichen Höhensonne, der medi-

zinischen Quarzlampe, auf das Auskeimungsgeschäft und auf das erste Wachstum bei höheren Pflanzen. Zu diesem Zweck wurden Weizenkörner verwendet. 12 Teller wurden mit Körnern von Saatweizen beschickt, je ein Lot, 800 Körner auf einen Teller, sodaß die einzelnen Körner nebeneinander lagen und auch durch die Quellung der Samen beim Auskeimen keine gegenseitige Behinderung auftrat. Die Aussaaten wurden unter gleiche äußere Bedingungen, Licht Temperatur, Wasser, gestellt.

Eine entsprechende Anzahl von Versuchen mit den gleichen Mengenverhältnissen wurde in durchlässigen Tontellern in Sandboden gesät und gleich den anderen behandelt. Von diesen Serien wurden 4 Teller von Anfang an täglich eine bestimmte Zeit, zuerst 10, später 20 Minuten der Höhensonne in einem Meter Entfernung ausgesetzt. Eine zweite Gruppe wurde nach 9tägigem Wachstum, nachdem die Pflanzen eine Höhe von zirka 8 cm erreicht hatten, der Bestrahlung unterworfen, eine dritte Gruppe blieb zur Kontrolle unbehandelt. Zur Verwendung kam reines Quecksilberdampflicht einer Kromayerschen Lampe ohne den von Hagemann angegebenen Glühlampenring. Stromstärke 6 Amp., Spannung 250 Volt. Die Temperatursteigerung bei 1 m Entfernung beträgt dabei noch nicht einen Grad.

Es zeigte sich, daß die unbedeckt liegenden bestrahlten Weizenkörner von Anfang an in der Auskeimung zurückblieben und auch eine Verzögerung im Wachstum zeigten, nachdem die Auskeimungsperiode zu Ende war. Bei einer großen Anzahl der bestrahlten Körner kam es überhaupt garnicht zur Auskeimung; wie weit die Differenz zwischen bestrahlten und unbestrahlten Körnern sich darstellt, zeigt die photographische Aufnahme (Bild I), welche am neunten Tage nach Ansetzen des Versuches nach einer Gesamtbestrahlungszeit von 120 Minuten gemacht worden ist.

Die von Erde bedeckten Körner scheinen durch die Bestrahlung unbeeinflußt geblieben zu sein, eine Beobachtung, die sich mit den Erfahrungen über die Durchdringungsfähigkeit der ultravioletten Strahlen für Gewebe deckt.

Weiter konnte festgestellt werden, daß nicht nur die zur Auskeimungszeit bestrahlten Proben an Wachstum zurückblieben, sondern auch die, welche erst nach einer Zeit ungestörten Wachstums, 8 Tage lang, der Lichtwirkung ausgesetzt worden sind, zeigen dünnere Halme, sind weniger hoch und haben typische Brandspitzen. Hier verhalten sich die in Erde und ohne Erde gezogenen gleichmäßig.

In einer weiteren Versuchsreihe wurde der Einfluß einer einmaligen Bestrahlung auf die Auskeimung und auf das Wachstum geprüft. Es wurden die Weizenkörner 48 und 72 Stunden der Keimung überlassen und dann unter den gleichen Bedingungen wie bei den

früheren Versuchen bestrahlt. Eine Gruppe eine Stunde hintereinander, eine zweite Gruppe zwei Stunden hintereinander. Es zeigte sich auch hier (Bild II) ein wesentlicher Unterschied. Von den bestrahlten Tellern waren erheblich weniger Samen aufgegangen, die Keime waren schwächer als die Kontrollen und zeigten auch bei dem späteren Wachstum ein Zurückbleiben. Diese Degenerationserscheinungen nahmen zu mit der Bestrahlungsdauer. Wenn man die trockenen Körner bestrahlt, so ist das nach meinen Versuchen für die Auskeimung ohne Belang.

Wenn man die nach den verschiedenen Methoden bestrahlten Proben untereinander vergleicht, so erkennt man, daß die von Anfang an fraktioniert bestrahlten Weizen die stärksten Degenerationserscheinungen zeigen; die Pflanzen sind durchweg mehr als die anderen im Sinne des Sonnenbrandes geschädigt, die Blätter sind gelb verfärbt und am niedrigsten.

Ich möchte hier noch eine Beobachtung einfügen, die mir bemerkenswert erscheint. Während des Auskeimens hatten sich meist Schimmelpilze, die nicht näher untersucht worden sind, mehr oder weniger zahlreich eingefunden. Nach den Bestrahlungen blieb das Wachstum der Schimmelpilze fort, während an den unbestrahlten Pflanzen die Schimmelpilze noch einige Tage weiterwucherten.

Aus meinen Versuchen erhellt, daß die ultravioletten Strahlen der Quarzlampe, so wie sie für die Therapie zur Verwendung kommt, einen schädigenden Einfluß auf die Keime von Pflanzen und auf die Entwicklung der jungen Pflanzen in der ersten Zeit nach der Auskeimung haben. Da es weder die durch die Strahlung entwickelte Wärme ist, denn die Temperatursteigerung beträgt noch nicht ein Grad, noch das Ozon, wie durch Schreiber und Germann an Bakterien nachgewiesen werden konnte, so ist die für die Keimung festgestellte Schädigung des Quecksilberdampflichtes wohl einzig und allein dem chemischen Einfluß der ultravioletten Strahlen zuzuschreiben.

Literatur.

1. G. Stümpke, Die medizinische Quarzlampe. Berlin 1912.
2. Th. Nogier, Action biologique de la Lampe en Quarz de Kromayer. Arch. d'électric. méd. Nr. 287, 10 juin 1910.
3. W. Pfeffer, Pflanzenphysiologie. 2. Aufl. Leipzig 1904.
4. Schreiber und Germann, Über die Wirkung der Quecksilberquarzlampe. Münch. med. Woch. 06. Nr. 39.

Das Wachstum von Blaualgen in mineralischen Nährlösungen.

Von **Heinrich Maertens.**

I. Einleitung.

Die Physiologie der Cyanophyceen ist in letzter Zeit wiederholt Gegenstand der Untersuchung gewesen. Die Abhängigkeit der Färbung von der Ernährung wurde eingehend bei Blaualgen von Boresch[1]) und Magnus und Schindler[2]) studiert. Die Autoren fanden, daß sich bei Verarmung der Nährlösungen an Nahrungsstoffen, besonders Stickstoffsalzen, eine von dem typischen Aussehen der Cyanophyceen abweichende Farbe bemerkbar machte. Die Verfärbung ins Gelb bis Braunrote konnte bei Darreichung von neuem Stickstoffsalz wieder rückgängig gemacht werden.

Im Jahre 1912 gelang es Pringsheim[3]) als erstem eine Methode aufzufinden, absolute Reinkulturen von Blaualgen herzustellen. Die in Reinkultur gewonnenen Arten waren einige Oscillarien und eine Nostoc-Spezies. Ferner führte er den Nachweis, daß die kultivierten Arten die verschiedensten organischen Stickstoffverbindungen verarbeiten können. Eine deutliche Förderung des Wachstums konnte weder durch sie noch durch andere organische Stoffe bewirkt werden. Rein autotrophe Ernährung wurde mit Nitraten, Nitriten und Ammoniumverbindungen als Stickstoffquellen erzielt. Aber es wurde noch nicht genauer untersucht, welche Bedingungen die besten für diese niederen Organismen sind. Da sie in Nährlösungskulturen im Laboratorium gut wachsen und sich für Experimente besonders eignen, so führte ich

---

[1]) K. Boresch, Zur Physiologie der Blaualgenfarbstoffe. Lotos LVIII. Prag 1910.

[2]) Magnus und Schindler, Über den Einfluß der Nährsalze auf die Oscillarien. Bericht der deutschen botanischen Gesellschaft 1912, Bd. 30, S. 314.

[3]) E. G. Pringsheim, Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen, III. Beiträge zur Biologie der Pflanzen, begründet von Dr. Ferd. Cohn. Bd. XII, 1913.

auf Anregung des Herrn Professor Dr. Pringsheim, eine größere Anzahl von Versuchsreihen durch, um die Bedeutung der Zusammensetzung von Nährlösungen festzustellen. In erster Linie kam es mir darauf an, die Bedeutung der verschiedensten Stickstoffquellen für Blaualgen genauer zu untersuchen, und zu beobachten, in welcher Konzentration das Wachstum der Alge am besten gefördert wurde. Welche Rolle die übrigen Nährsalze spielen, wird in einem weiteren Abschnitt zu behandeln sein. Es wurde geprüft, ob Calcium für Blaualgen ein notwendiges Element darstellt und ob Kalium sich durch Natrium ersetzen läßt. Als wichtig erschien es ferner, einmal der Frage näher zu treten, welche Reaktion der Nährlösung sich für Blaualgenkulturen am förderlichsten erweist, und inwiefern schwache Acidität und Basicität von ihnen noch vertragen werden kann. Da ja bekanntlich die Cyanophyceen an sehr mannigfaltigen Standorten angetroffen werden, wie sie in verschmutzten Abwässern einerseits und sterilen Sandböden andererseits vorliegen, so kann man schon aus diesem Grunde schließen, daß bei der Durchführung der angegebenen Versuche sich Unterschiede in der Ernährungsweise ergeben müssen. Allein innerhalb der Gattung Cylindrospermum, die von Seiten meines Kollegen Glade[1]) eingehend untersucht wurde, haben sich zahlreiche ernährungsphysiologische Verschiedenheiten ergeben. Es war daher mein Bestreben, Arten möglichst verschiedener Gattungen zu bekommen und auf diese meine Versuche auszudehnen.

II. Methodik.

Die in Kultur genommenen Blaualgen, die ich teils von Herrn Professor Dr. Pringsheim und von meinem Kollegen Glade erhielt, teils selbst in den Gewächshäusern des botanischen Gartens zu Halle gefunden habe, mußten auf einem geeigneten Substrat gezüchtet werden, nicht allein wegen der Erhaltung der Art, sondern hauptsächlich um genügendes Impfmaterial für die Ernährungsversuche zu haben. Als außerordentlich günstig erwiesen sich Petrischalen mit Kieselgallerte, welche schon in den Pringsheimschen Arbeiten näher beschrieben wurden. Die als Kieselgallerteplatten bezeichneten Schalen wurden mit einer für meine Cyanophyceen geeigneten Nährlösung versehen. Dieselbe bestand aus 0,1 % $Ca(NO_3)_2$ + 0,02 % K_2HPO_4 + 0,02 % $MgSO_4$ + 7 H_2O + Spur $Fe_2(PO_4)_2$. Das Eisen konnte auch weggelassen werden, da es sich in dem Leitungswasser in genügender Menge vorfand, das zum Wässern der Platten benutzt worden war. An Stelle des Calciumnitrats wurde auch Kaliumnitrat erfolgreich verwendet. Dann konnte

[1]) R. Glade, Zur Kenntnis der Gattung Cylindrospermum. Beiträge z. Biologie d. Pflanzen Bd. XII, S. 295. 1914.

das Kaliumphosphat durch Ammoniumphosphat ersetzt werden, ohne daß sich eine merkliche Beeinflussung des Wachstums zeigte. Nachdem die Nährlösung in die Gallerte hineindiffundiert war, wurde die darüber stehende Flüssigkeit abgegossen, und die Petrischalen wurden im Dampftopfe sterilisiert. Nach Verlauf von 24 Stunden wurde dieser Prozeß wiederholt, um die nach der ersten Sterilisation noch nicht getöteten Pilzsporen nun nach erfolgter Keimung vollends abzutöten. Trotzdem konnte es geschehen, daß bei nicht genügendem Auskühlen im geschlossenen Dampftopf neue Pilzsporen aus der Laboratoriumsluft eingesogen wurden und die Kulturen verunreinigten. Nur durch häufiges Abimpfen konnten dieselben wieder rein erhalten werden.

Auf so vorbehandelten Kieselgallerteplatten gediehen meine Blaualgen vorzüglich. Da sie in kurzer Zeit ausgedehnte Räschen bildeten, so war ich imstande, zu jeder Zeit für meine Versuche frisches und wachstumsfähiges Impfmaterial zur Verfügung zu haben.

Was nun die Kultur der Algen in künstlich zusammengesetzten Nährlösungen betrifft, so ist nach den Erfahrungen Molischs[1]) und anderer Autoren auf gewisse Punkte bei der Bereitung der Lösungen besonders zu achten. Dies gilt in erster Linie von den zur Verwendung kommenden Nährsalzen und Glasgefäßen. Jeder, der sich mit Mikroorganismen einige Zeit beschäftigt hat, wird die Erfahrung gemacht haben, daß gerade niedere Algen von äußerst geringen Mengen mineralischer Stoffe leben können. Dies beweist schon das Auftreten kleiner Grünalgen in destilliertem Wasser oder in Glasflaschen, in denen die Lösungen einzelner Salze aufbewahrt werden. Deshalb ist bei der Bereitung der Nährlösungen mit größter Vorsicht zu Werke zu gehen. Jede Verunreinigung der Nährsalze muß so weit als möglich ausgeschaltet werden. Würden dieselben nicht erst einer besonderen Reinigung unterzogen, so würde man zu ganz falschen Versuchsresultaten gelangen. Die bei meinen Versuchen zur Verwendung kommenden Salze waren von Kahlbaum und Merck bezogen und die garantiert reinsten. Bei der Herstellung der Nährlösungen benutzte ich nur destilliertes Wasser, das ich zum zweiten Male in Jenenser Glasgefäßen destillierte.

Eine weitere Fehlerquelle bilden unsere gewöhnlichen Glasgefäße, soweit sie nicht aus widerstandsfähigem Glase hergestellt sind. Da ja die Glassubstanz bekanntlich Calcium, Kalium, Eisen und Silicium enthält, und davon während der Dauer eines Versuches Spuren in Lösung gehen, die schon genügen würden, Algen eine Entwicklung

[1]) H. Molisch, Die Ernährung der Algen. (Süßwasseralgen.) I. Abh. Sitzb. d. kais. Akad. d. W. in Wien. Math.-naturw. Kl. Bd. CIV. Abt. I. Okt. 1895.

zu gestatten, so mußte ich mich nach besonderen Hilfsmitteln umsehen. Um eine Lösung von Stoffen aus dem Glase zu verhüten, versah ich meine Gefäße mit einem Paraffinüberzug, wie ihn zuerst Molisch bei seiner Untersuchung über Grünalgen angewendet hat.

Bei der Herstellung der Paraffingefäße verfuhr ich folgendermaßen. Sämtliche Glassachen, die zur Bereitung der Nährlösungen dienten, wurden erst sorgfältig gereinigt. Ich bediente mich zu diesem Zweck der Chromschwefelsäure, die ich längere Zeit, mindestens eine Viertelstunde lang, auf die Innenwände der Kulturgefäße einwirken ließ. Die Säure leistet sehr gute Dienste, da sie vor allem jede organische Substanz zerstört. Auch haftet das Paraffin nach ihrem Gebrauch bedeutend besser an der Glaswand. Die Gefäße wurden nun gut gereinigt und im Trockenschrank sorgfältig getrocknet, da das Paraffin, sobald ein Hauch von Feuchtigkeit vorhanden ist, nicht an der Glaswand hält. Dann wurden kleine Stückchen von feinstem weißen Paraffin vom Schmelzpunkt 70° in die Gefäße getan, die hierauf noch einmal im Trockenschrank erwärmt wurden. Nachdem das Paraffin geschmolzen war, wurde unter stetigem Drehen des Gefäßes das erstarrende Paraffin an der Innenwand gleichmäßig verteilt, bis das ganze Innere schließlich von einem weißen Paraffinmantel ausgekleidet war.

Bei den Erlenmeyerkölbchen, die bestimmt waren, später die Nährlösung aufzunehmen, verfuhr ich etwas anders. Nachdem sie mit Paraffin versehen und mit reinster entfetteter Baumwollwatte verstöpselt waren, wurden sie im Trockenschrank eine halbe Stunde lang auf eine Temperatur von 120° gehalten. Auf diese Weise sind sie gleich sterilisiert. Dann tauchte ich sie, nachdem ich das flüssige Paraffin innen bis nahe an den Wattepfropf hatte fließen lassen, sofort in kaltes Wasser. Durch die plötzliche Abkühlung erzielte ich eine bessere homogene Schicht, die völlig blasenfrei war, während bei allmählichem Erstarren sich oft kleine Bläschen bildeten. Es ist von großer Wichtigkeit, daß die Paraffinschicht blasenfrei ist. Befanden sich noch Blasen im Paraffin, so platzten diese später gewöhnlich bei der Beschickung der Kölbchen mit Nährlösung. Die Flüssigkeit drang dann allmählich zwischen die Paraffin- und Glaswand ein und bewirkte ein Abblättern des Paraffinmantels.

Eine zweite Möglichkeit bieten in dieser schwierigen Frage die schon oben erwähnten widerstandsfähigen Gefäße aus Jenenser Geräteglas. Wenn man mit äußerster Sorgfalt und peinlichster Sauberkeit zu Werke geht, kann man auf diesem Wege auch zu ungetrübten Resultaten kommen. Bei der Reinigung der Jenenser Kölbchen, wie ich dieselben kurz nennen will, brachte ich eine Methode in Anwendung, die von Abegg für physikalisch-chemische Zweke erdacht worden ist. Nach der Behandlung mit Chromschwefelsäure dampfte ich die

Kölbchen eine Viertelstunde lang aus, um durch das stets frisch kondensierte heiße Wasser die löslichen Bestandteile möglichst zu entfernen. Solche vorbehandelten Gefäße waren recht gut brauchbar und konnten bei den kaliumfreien Kulturen auch mit Erfolg angewendet werden.

Nachdem die mit Nährlösung beschickten Kölbchen im Dampftopf sterilisiert waren, wurden sie geimpft und an ein Nordfenster gehängt. In den Sommermonaten wuchsen die Kulturen im diffusen Tageslicht ausgezeichnet; anders gestalteten sich die Lichtverhältnisse im Winter. Besonders in den Monaten Dezember und Januar war bei trübem Wetter das Wachstum äußerst gering. Ich hielt es daher für zweckmäßig, den Kulturen mehr Licht angedeihen zu lassen und hängte sie deshalb im Januar versuchsweise an ein Südfenster. Eine Förderung des Wachstums, die man vielleicht erwarten könnte, trat aber nicht ein, sondern gerade das Gegenteil machte sich geltend. Die grünen Algenfäden blichen bei direkter Sonnenbestrahlung allmählich aus und nahmen eine gelbliche Farbe an. Die Verfärbung konnte teilweise bis zu gänzlichem Erblassen der Fäden fortschreiten. Derartige total entfärbte Kulturen waren dann dauernd geschädigt und wuchsen nicht mehr, auch wenn sie den Einflüssen des direkten Sonnenlichtes nicht mehr ausgesetzt waren. Den Einfluß der Lichtstärke auf die Farbe der Cyanophyceen hatte schon Nadson[1]) entdeckt, und ich kann seine Befunde durch meine Erfahrungen durchaus bestätigen. Aus dem Dargelegten geht hervor, daß es in den Wintermonaten ziemlich schwierig ist, bei ungünstigen Lichtverhältnissen gute Kulturen zu erhalten. Dies gilt hauptsächlich von den Flüssigkeitskulturen. Kulturen auf Kieselgallerte oder Agar-Agar zeigten im Winter stets besseres Wachstum. Dasselbe konnte natürlich nicht die Intensität erreichen wie etwa in den für Algenkulturen günstigen Sommermonaten.

Was nun das lebende Algenmaterial betrifft, so bekam ich von Herrn Professor Dr. Pringsheim zu Beginn meiner Versuche einige Arten, die er damals schon mit Erfolg kultiviert hatte. Die Blaualgen waren speziesrein und entstammten teils Kieselgallerteplatten, teils Gipsblöcken in Deckelschalen. Erst später, nachdem es gelungen war, absolute Reinkulturen von diesen Arten herzustellen, war es mir vergönnt, auch bakterienfreies Algenmaterial für meine Versuche zu verwenden. Unter den Blaualgen befanden sich einige Oscillarien, ein Nostoc und eine einzellige Art; die Bestimmung der Arten, die ebenfalls von Seiten Pringsheims[2]) geschah, wurde nach Lemmer-

[1]) G. Nadson, Über den Einfluß der Lichtstärke auf die Färbung der Algen. Petersburg, 1908.

[2]) E. G. Pringsheim, Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen, III. Beiträge z. Biologie der Pflanzen Bd. XII. 1913. S. 63.

mann s[1]) „Kryptogamenflora“ und nach der ausführlichen Monographie von Gomont[2]) ausgeführt.

Die in meinen Versuchen vorläufig als Oscillaria I gekennzeichnete Art sieht in größeren Lagern dunkelgrün aus. Die Trichome sind gerade und an den Enden zugespitzt. Die Endzelle ist deutlich abgerundet. Die Breite der Fäden beträgt nach eigener Messung 5—6, 5 μ, während Lemmermann für die Breite 4—6, 5 μ angibt. Die Zellen sind etwa $^1/_2$—$^1/_3$ mal so lang als breit. Die Querwände sind nicht granuliert und nicht eingeschnürt. Lemmermann nimmt dagegen für diese Art Granulation an, während Gomont gerade das Fehlen derselben hervorhebt. Da die übrigen Merkmale nach Gomont ebenfalls gut passen, so muß meine Art als Oscillaria brevis Kütz. identifiziert werden.

Die zweite als Oscillaria IV bezeichnete Art ist bedeutend feinfädiger und weist eine frische blaugrüne Farbe auf. Die Trichome sind gerade und an den Enden abgerundet. An den Scheidewänden befinden sich zwei Reihen von kleinen Pünktchen, ferner konnte meist eine schwache Einschnürung an den Querwänden festgestellt werden. Die Breite der Fäden beträgt 4—5 μ, die Zellen sind $^1/_3$—$^1/_2$ so lang als breit. Nach diesen Merkmalen entspricht diese Art der Oscillaria tenuis Ag. Auch stimmen die Abbildungen bei Gomont (Tafel VII, Figur 2 und 3) gut für diese Blaualge.

Die Bestimmung des Nostoc spec. gelang mir nicht in einwandfreier Weise. Da bei der Artfeststellung als wichtigstes Merkmal die Form und die Gestalt des Thallus in Frage kommt, so war, da ich frisches Algenmaterial an dem ursprünglichen Standort nicht beobachten konnte, eine nähere Speziesbezeichnung nicht gut möglich.

Noch schwieriger gestaltete sich die Identifizierung der einzelligen Blaualge. Die Zellen sind rundlich und zu vielen Hunderten nach allen Richtungen des Raumes zu Gallertlagern lose vereinigt. Ihre Farbe ist ein helleres Blaugrün. Dauerzellen sind nicht bekannt. Die Diagnose dürfte für eine Chroococcus spec. stimmen. Von einer genaueren Bezeichnung mußte ich wegen der außerordentlichen Kleinheit der Zellen leider absehen.

Eine weitere Art erhielt ich durch meinen Kollegen Glade[3]), welcher sie durch Anhäufungsversuche mit Erde aus dem botanischen Garten in Halle gewonnen hatte. Dieselbe war eine zu der Familie

---

[1]) E. Lemmermann, Kryptogamenflora der Mark Brandenburg. Algen I. Leipzig 1910.

[2]) M. Gomont, Monographie des Oscillariées, Ann. des sc. nat. sér. VII. Bot. T. XV.

[3]) R. Glade, Zur Kenntnis der Gattung Cylindrospermum. Beiträge z. Biologie d. Pflanzen Bd. XII. 1914. S. 306.

der Nostocaceen gehörende Cylindrospermum-Art, und ist als C. licheniforme forma typica bestimmt und eingehend beschrieben worden.

Neben zahlreichen Oscillarien, Nostocaceen und Chroococcaceen fand ich in Gewächshäusern eine Calothrix-Art. Dieselbe bildete an submersen Wasserpflanzen einen schwärzlich grünen Überzug. Es galt nun, diese Form speziesrein zu bekommen und sie von anhaftenden Diatomeen und kleinen Grünalgen zu befreien. Eine besonders geeignete Isolierungsmethode stellt das Kochsche Plattengußverfahren dar. Das zu isolierende Algenmaterial wurde möglichst fein in einem Uhrschälchen mit etwas Wasser zerrieben. Mit einer Pipette wurde etwas von der Flüssigkeit aufgenommen und in ein Röhrchen mit flüssigem Agar, der 0,02% KNO_3 + 0,02% K_2HPO_4 + 0,02% $MgSO_4$ + 7 H_2O enthielt und auf 40° abgekühlt worden war, übertragen. Aus diesem Röhrchen, das kräftig durchgeschüttelt wurde und den Ausgangspunkt für eine Reihe von Verdünnungen darstellte, wurde wieder etwa ein Kubikzentimeter Flüssigkeit genommen und mit dem Agar eines zweiten Röhrchens vermischt. Auf diese Weise wurden mehrere Verdünnungen hintereinander hergestellt und in Petrischalen gegossen. Dabei blieben immer einige Fäden der Blaualge, die man von den übrigen Verunreinigungen trennen wollte, lebendig. Durch die Verdünnungen wurden sie gut isoliert, und ich war imstande, in dem Agar mit Hilfe des Mikroskops einige Zellfäden zu entdecken, die, abgesehen von Bakterien, völlig von fremdem Material gesäubert waren. Diese wurden nun auf Kieselgallerteplatten abgeimpft und bildeten in kurzer Zeit den Ausgangspunkt neuer speziesreiner Algenkulturen. Bei einigermaßen schnellwachsenden Arten empfiehlt sich die Kochsche Trennungsmethode. Gloeocapsa- und Chroococcus-Arten, die sich sehr langsam vermehren, konnte ich auf diese Weise nicht trennen. Da den einzelnen Zellen zahlreiche Bakterien anhafteten, so wurde die Stelle im Agar in kurzer Zeit getrübt und undurchsichtig, worauf die Alge abstarb.

Die speziesrein gewonnene Calothrix mußte nun noch näher identifiziert werden. Die einzelnen Fäden sind am Grunde zwiebelartig angeschwollen, während sie sich nach ihrem entgegengesetzten Ende stark verjüngen und schließlich in ein feines Haar auslaufen. Die vegetativen Zellen erreichen eine Breite von 6—7 μ, und die Länge eines ganzen Zellfadens beträgt 200—250 μ. An den Scheidewänden sind die Fäden deutlich eingeschnürt. Die Zellen sind ½—⅓ mal so lang als breit. Die Grenzzellen finden sich stets in Einzahl vor, sie sind halbkuglig, größer als die vegetativen Zellen und sitzen dem basalen Ende eines jeden Fadens auf. Nach den Angaben Lemmermanns und einer Abildung Gomonts (Journ. de Bot. 1895 Figur 2 A) muß diese Art als Calothrix stellaris angesprochen werden

Die Artbenennung besagt, daß sich die einzelnen Fäden strahlen- oder sternförmig zu kleinen Kolonien vereinigen.

Außer diesen mit Erfolg in Kultur genommenen Arten fanden sich auch solche, die sich für künstliche Kulturen nicht eigneten, sei es, daß sie sich von Natur schon viel zu langsam vermehrten, oder daß sie in wässrigen Lösungen überhaupt nicht gediehen. Zu den ersteren gehört die schon oben erwähnte Gloeocapsa- und Chroococcus-Art, zu der zweiten Gruppe eine von mir längere Zeit kultivierte Oscillaria. Die als O. sancta bestimmte Form fand ich als dicke schwarzbraune bis stahlblaue Überzüge auf Cladophora in einem Warmhaus des botanischen Gartens. Einmal fiel diese Oscillaria schon dadurch von den übrigen kultivierten Arten auf, daß die einzelnen Zellfäden unter dem Mikroskope eine bräunliche Färbung zeigten, ferner durch die bedeutende Dicke der Fäden, die 10—20 μ betrug Außerdem waren die Fäden in viel lebhafteren Oscillationen begriffen als die von O. brevis und O. tenuis. Oscillaria sancta kultivierte ich aber mit Erfolg nur auf Kieselgallerteplatten in einer Nährlösung von 0,1% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% K_2HPO_4 + 0,02% $MgSO_4$, wobei das Kalium auch als Nitrat und der Phosphor als Ammoniumphosphat ohne Unterschied in bezug auf das Wachstum ersetzt werden konnte. In Wasserkulturen, die die gleiche Zusammensetzung der Nährsalze wie die Kieselgallerteplatten enthielten, konnte ich dagegen keine Vermehrung der O. sancta feststellen. Die Alge wuchs überhaupt nicht und ging nach einiger Zeit zugrunde. Diese Verschiedenheit der Wachstumsergebnisse in den sonst gleichen Nährmedien beruht wahrscheinlich auf der physikalischen Verschiedenheit des Substrates. O. sancta besitzt ein starkes Kriechvermögen und kommt in der Natur auf anderen Algen vor, sodaß es vielleicht möglich ist, daß dieser Faktor irgendwie für die Lebensbedingungen dieser Art in hohem Maße ausschlaggebend ist.

Was nun die Weiterkultur der genannten Arten betraf, so wurden alle Arten auf Kieselgallerte mit der schon öfters erwähnten Nährsalzlösung über zwei Jahre lang erfolgreich gezüchtet, ohne daß sich beim fortwährenden Abimpfen ein und desselben Materials eine Schwächung bemerkbar machte. O. brevis, O. tenuis und Nostoc spec., die in absoluter Reinkultur vorlagen, wurden auf Heydenagar in schräg-liegenden Reagenzröhrchen über ein Jahr lang mit ausgezeichnetem Erfolg kultiviert. Der Heydenagar enthielt nach einer Mitteilung des Herrn Professor Dr. Pringsheim in 500 ccm destilliertem Wasser 1,5 g Heydennährstoff und 7 g gewässerten Agar-Agar. Im Autoklav wurde diese Mischung gekocht und durch ein Bäuschchen entfetteter Watte filtriert. Während O. tenuis und Nostoc spec. keine Ermüdung im Wachstum zeigten, ließ dasselbe bei O. brevis durch die fortgesetzte

Kultur in organischen Stoffen allmählich nach und mußte durch Übertragung auf Mineralsalzagar aufgefrischt werden.

Zum Schluß möchte ich noch auf die konstanten Größenverhältnisse der in Kultur genommenen Cyanophyceen, besonders der Oscillarien hinweisen. Zahlreiche an Oscillarien ausgeführte Maßbestimmungen zeigten keine Abweichungen von der normalen Zellgröße, obwohl das Algenmaterial aus den verschiedensten Nährlösungen stammte, in denen den Algen sowohl organische als auch anorganische Stickstoffquellen dargeboten worden waren. Ebenso konnten keine Größenunterschiede an Blaualgen festgestellt werden, die in wässrigen Lösungen oder auf Kieselgallerte und Agar-Agar gewachsen waren. Trotzdem könnte es aber möglich sein, daß in verschiedenen Nährmedien vielleicht erst in viel größeren Zeiträumen sich Abweichungen in der Breite und Länge der Zellen zeigen, und sich auf diese Weise Rassenunterschiede herausbilden; denn wie sollte man sich sonst z. B. die Entstehung der zahlreichen Oscillatoria-Arten erklären?

III. Die Bedeutung der Stickstoffquellen.

Stickstoff ist nach den Untersuchungen Molischs[1]) ein durchaus unentbehrliches Element für die Ernährung der Algen wie für alle Organismen. Seine stickstofffreien Kulturen waren nicht nur in ihrer Entwicklung gehemmt, sondern die Algen wurden farblos und begannen abzusterben. Vor allem hebt er als besonders wichtig hervor, daß für ein gedeihliches Wachstum Stickstoff in gebundener Form vorliegen müsse. Damit widerlegt er Franks[2]) Behauptung, daß alle grünen Pflanzen, somit auch die Algen, imstande seien, den elementaren Stickstoff der Luft zu assimilieren.

Gerade für Blaualgen ist aber wiederholt die Möglichkeit der N-Bindung angenommen worden. Am meisten Glauben hat die Angabe von Beijerinck[3]) gefunden, daß seine Cyanophyceen, vor allem Nostoc- und Anabaena-Arten, den atmosphärischen Stickstoff assimilierten, da die Nährlösung nur Spuren von Stickstoff enthielt, und trotzdem gutes Wachstum eintrat. In diesem Falle ist es aber sehr wahrscheinlich, daß stickstoffbindende Bakterien den Algen den fehlenden Stickstoff geliefert haben. Eine Prüfung dieser Möglichkeit

---

[1]) H. Molisch, Zur Ernährung der Algen (Süßwasseralgen). Sitzungsbericht d. kais. Ak. d. Wissenschaften zu Wien. Math.-naturw. Kl. 1897. Bd. CV. Abt. I. S. 793.

[2]) A. B. Frank, Über den Nachweis der Assimilation freien Stickstoffs durch erdbewohnende Algen. Ber. d. b. G. 1889. Bd. 7.

[3]) M. W. Beijerinck, Über oligonitrophile Mikroben. Zentralblatt f. Bakteriologie, II. Abt., Bd. VII. 1901.

hat Beijerinck nicht vorgenommen, auch die Erklärung, daß die genannten Arten vielleicht ein sehr geringes Stickstoffbedürfnis haben, hat er nicht ins Auge gefaßt.

Bis jetzt ist aber kein Fall bekannt, wonach Algen den elementaren Stickstoff verwerten können. In Lösungen ohne Zusatz von gebundenem Stickstoff ist kein Wachstum möglich.

In nachstehender Ausführung will ich mich nur auf anorganische Stickstoffverbindungen beschränken, aber zuvor soll uns ein kurzer Rückblick auf die Literatur über die Verwendbarkeit des anorganisch gebundenen Stickstoffs Aufschluß geben. Speziell auf dem Gebiete der Blaualgen liegen hier schon einige Erfahrungen vor.

Von den Forschern, die derartige Versuche angestellt haben, sind, wie aus der Einleitung der Pringsheimschen Arbeit[1]) ersichtlich ist, Ad. Richter, Molisch und Bouilhac zu nennen. Die Autoren hatten richtig erkannt, daß der pflanzliche Organismus der niedersten Algen den Stickstoff ebenso notwendig bedarf wie den Kalium-, Calcium- und Eisengehalt. Im vorliegenden Falle war die N-Quelle Calciumnitrat. Nach O. Richter[2]) war Bouilhac[3]) schon der Ansicht, daß Cyanophyceen den Stickstoff in Ammoniumverbindungen verwerten können.

Während die bisher erwähnten Forscher in der Hauptsache Nitrate als Stickstoffquellen für Cyanophyceen benutzt haben, hat neuerdings Pringsheim[1]) untersucht, inwiefern Nitritverbindungen und Ammoniumsalze als N-Quellen in Betracht kommen, und ob diese den Nitratstickstoff ersetzen können. Die Versuche, die die Wirkung verschiedener anorganischer Stickstoffquellen wiedergeben, waren folgende:

1) 0,05% KNO_3 + 0,02% $MgSO_4 + 7H_2O$ + 0,02% eines Gemisches von
2) = KNO_2 = = = 15 Teilen KH_2PO_4 u.
3) = $(NH_4)_2SO_4$ = = = 100 Teilen K_2HPO_4
4) = $(NH_4)_2HPO_4$ = = =
5) Kleine Menge NH_4MgPO_4 + 0,01% K_2SO_4 in dopp. dest. Wasser. Überall Spur $FeSO_4$ und $CaSO_4$.

Als Versuchsalge diente Oscillaria tenuis, die in Reinkultur vorlag. Die verschiedenen Stickstoffkulturen ergaben folgende Resultate: In allen Lösungen, außer in der Nitritlösung, wurde gutes Wachstum erhalten. Daß das Salz der salpetrigen Säure sich nicht als günstig erwies, beruht nach der Ansicht des Verfassers darauf, daß bei Anwesenheit von Nitrit die Lösung mehr basisch sein muß, wie etwa

---

[1]) E. G. Pringsheim, Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen III. Beiträge z. Biologie d. Pflanzen Bd. XII. 1913.

[2]) O. Richter, Die Ernährung der Algen. Leipzig 1911.

[3]) R. Bouilhac, Sur la fixation de l'azote atmosphérique par l'association des Algues et des bacteries. 1896. C. R. Bd. 123.

bei Gegenwart von sekundärem Kaliumphosphat. Eine geeignete Nährlösung war demnach unter Verwendung von Nitrit als N-Quelle zu erzielen, wenn diese die Zusammensetzung von

0,05% KNO_2
0,02% K_2HPO_4
0,01% $MgSO_4$
Spur $CaSO_4$ und $Fe_2(PO_4)_2$ in doppelt dest. Wasser hatte.

In dieser Lösung wachsen neben der Oscillaria tenuis auch die anderen in Reinkultur gewonnenen Arten gut.

Aus Pringsheims Versuchen geht demnach hervor, daß Nitrate, Nitrite und Ammoniumverbindungen sich als geeignete Stickstoffquellen erweisen, aber unter einem gewissen Vorbehalt, was die Reaktion der Nährlösungen anbetrifft. Auf diesen Punkt wird später noch einmal zurückzukommen sein. Daß schwach alkalische Reaktion der Nährlösung von ganz bedeutender Wichtigkeit ist, betont schon Molisch[1]) in seiner zweiten Abhandlung über die Ernährung der Algen. Doch ist dabei die sonstige Zusammensetzung der Lösung, besonders die N-Quelle, zu berücksichtigen.

In letzter Zeit hat Boresch[2]) bei seinen Ergrünungsversuchen gelbgewordener Cyanophyceen gezeigt, daß sich außer Nitraten auch Ammoniumsalze und organische Stickstoffverbindungen, möglicherweise auch Nitrite eignen. Seine Versuche erstrecken sich jedoch nur auf das Wiederergrünen der Algen, deshalb ist es noch nicht erwiesen, in welcher Weise die von ihm verwendeten Stickstoffsalze das Wachstum der Blaualgen bei einer längeren Versuchsdauer beeinflussen. Auch Schindler[3]) benutzte bei seinen Versuchen, die sich auf den Farbenwechsel der Oscillarien bezogen, sowohl Nitrate als auch Ammoniumverbindungen, für die Kultur aber nur Nitrat.

Genauere Untersuchungen über N-Quellen, wie sie in Nitraten, Nitriten und Ammoniumsalzen vorliegen, und in welcher Weise sie das Wachstum mehr oder minder gut fördern, sind von meinem Kollegen Glade[4]) ausgeführt werden. Als Versuchsalgen dienten ihm verschiedene Arten der Gattung Cylindrospermum. Er kam zu dem Resultat, daß innerhalb derselben Gattung in einer und derselben Nährlösung mit einer bestimmten Stickstoffquelle, z. B. Calciumnitrat, das optimale Wachstum an bestimmte Konzentrationsstufen

[1]) H. Molisch, Die Ernährung der Algen (Süßwasseralgen). Okt. 1896. Sitzb. d. kais. Akad. d. W. in Wien. Math.-naturw. Kl. Bd. CV. Abt. I.

[2]) K. Boresch, Zur Physiol. d. Blaualgenfarbstoffe. Lotos LVIII. Prag 1910.

[3]) B. Schindler, Über den Farbenwechsel der Oscillarien. Abdruck aus der Zeitschrift für Botanik, 5. Jg. 1913. Heft 7.

[4]) R. Glade, Zur Kenntnis der Gattung Cylindrospermum. Beiträge z. Biologie d. Pflanzen Bd. XII. 1914. S. 318—326.

gebunden ist. So fand er, daß C. licheniforme forma typica am besten in der Konzentration von 0,1 % Calciumnitrat gedeiht, während C. licheniforme forma Lemmermanni das beste Wachstum bei 0,05% zeigt.

Wie wir in dieser kurzen Literaturübersicht gesehen haben, liegen verschiedene Fingerzeige und Angaben über geeignete Stickstoffquellen für Cyanophyceen-Arten vor. An diese galt es nun bei der Bestimmung der optimalen Konzentrationen in Stickstoffnährlösungen anzuknüpfen. Auch sollte untersucht werden, welches von den Stickstoff enthaltenden Salzen sich als beste N-Quelle erweist. Die zu prüfenden Stickstoffquellen waren in der Hauptsache Salze der Salpeter- und salpetrigen Säure, sowie Ammoniumverbindungen. Natürlich konnte ich nicht alle Stickstoffsalze zur Prüfung heranziehen, sondern immer nur eine Auswahl treffen, die sich hauptsächlich auf die für Nährlösungen gebräuchlichsten Verbindungen erstreckte. Zuerst will ich die Verwertbarkeit einiger Nitrate erörtern.

Kulturversuche in verschiedenen Calciumnitratkonzentrationen.

Die Versuche wurden unter Beobachtung aller Vorsichtsmaßregeln und mit peinlichster Sauberkeit ausgeführt. Vor allem mußte streng darauf geachtet werden, daß Stickstoff enthaltende Verunreinigungen vermieden wurden. In der Wahl der Kulturgefäße brauchte man dagegen nicht so große Vorsicht walten zu lassen. Ich benutzte Erlenmeyerkölbchen aus gewöhnlichem Glase, da etwaige gelöste mineralische Bestandteile auf die Stickstoffkonzentrationen nicht störend einwirken konnten. Die Nährlösung bestand aus:

1) 0,5%	$Ca(NO_3)_2$ +	0,02% K_2HPO_4 +	0,02% $MgSO_4 + 7\,H_2O$ +	
2) 0,25%	=	=	=	Spuren $Fe_2(PO_4)_2$ +
3) 0,1%	=	=	=	$CaSO_4$ in dopp. dest.
4) 0,075%	=	=	=	Wasser.
5) 0,05%	=	=	=	
6) 0,025%	=	=	=	
7) 0,01%	=	=	=	
8) Kein Stickstoff	=	=	=	

Calciumsulfat, das ich mir aus dem von Kahlbaum bezogenen garantiert reinsten Calciumnitrat hergestellt hatte, wurde der Nährlösung in Form von einigen Tropfen einer in doppelt dest. Wasser hergestellten Aufschlämmung zugefügt. Da meine Cyanophyceen Calcium benötigen, so hielt ich die Hinzufügung dieser geringen Mengen von Calciumsulfat in den Lösungen, in denen das Calcium gleichzeitig mit dem Stickstoff bis auf das Minimum abgestuft wurde, für geboten. In die Lösungen 1 bis 8 impfte ich folgende in Kultur gut wachsende Cyanophyceen-

Arten: Oscillaria brevis und O. tenuis, Nostoc spec., Cylindrospermum licheniforme forma typica und Calothrix stellaris. Das Impfmaterial stammte aus Petrischalen, in denen die Cyanophyceen auf der schon früher erwähnten Kieselsäuregallerte mit Erfolg kultiviert wurden. Zum Teil konnte ich für meine Versuche auch einige bakterienfreie Reinkulturen verwenden. An solchen lagen Oscillaria tenuis und Nostoc spec. vor.

Beginn des Versuches am 24. April 1913. Ende am 7. Juni 1913. Im folgenden habe ich mich bemüht, die Veränderungen, die sich in den Kulturen vom Tage der Impfung an bemerkbar machen, in Abständen aufzuzeichnen. So deutet die Ausbreitung der Fäden auf das Wohlbefinden der Alge und die Eignung der Lösung hin, während eine Zusammenballung der Impfmasse auf schädliche Wirkungen z. B. auf saure Reaktion der Nährlösung hinweist. Im wesentlichen habe ich mich den Bezeichnungen Pringsheims[1]) angeschlossen, der sie ausführlich in dem Kapitel über „Entwicklung und Habitus der Kulturen" beschrieben hat.

Nach vier Tagen, am 28. April, hatten die Oscillarien und Nostoc ihre Fäden in den Lösungen 3 bis 6 gut ausgebreitet, in 2 und 7 waren sie nur ganz fein auseinandergekrochen, und in 8 haftete das Impfklümpchen noch nicht an der Glaswand. Cylindrospermum licheniforme zeigte nur in 3 bis 5 eine Ausbreitung der Fäden, während in allen übrigen Lösungen noch keine Veränderung zu bemerken war. Die langsam wachsende Calothrix hatte sich in allen Lösungen noch nicht verändert. Die Impfklümpchen lagen am Boden der Kölbchen.

Am 12. Mai zeigten die Oscillarien in 3 bis 5 die beste Entwicklung. Kultur 5 war weniger gewachsen; 1, 2, 6 und 7 bildeten schwache Überzüge, in 8 hatten sich die Oscillarien zwar ausgebreitet, doch hatte bis jetzt keine sichtliche Vermehrung der Fäden stattgefunden. — Nostoc sah am besten in 4 und 5 aus, im übrigen verhielt sich das Wachstum ähnlich dem der Oscillarien. In 8 war keine Entwicklung festzustellen, nur einige schon etwas gelb aussehende Fäden durchzogen die Nährflüssigkeit.

Cylindrospermum licheniforme hatte die stärkste Vermehrung in 3 und 4 erfahren, in 1, 7 und 8 war kein Wachstum zu erkennen, während in 2, 5 und 6 sich schwächere Algenüberzüge gebildet hatten. Calothrix stellaris hatte sich am besten in Lösung 6 entwickelt. Beide Kölbchen zeigten auf der Oberfläche der Kulturflüssigkeit eine zarte Haut, in die viele kleine Algencentren sternförmig verteilt erschienen. Die Impfklümpchen in den übrigen Lösungen waren noch schön grün, ließen aber bis jetzt keinen Fortschritt in ihrem Wachstum erkennen.

Wie man hieraus ersehen kann, zeigt jede Art in den Konzentrationsreihen auf einer bestimmten Stufe ihre beste Entwicklung.

Am 7. Juni, nach 1½ monatlicher Versuchsdauer, wurde wieder kontrolliert. Oscillaria brevis und O. tenuis waren in den Kulturen 1, die 0,5%

[1]) E. G. Pringsheim, Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen. III. Beiträge z. Biologie d. Pflanzen Bd. XII. 1913. S. 64.

Calciumnitrat enthielten, nur mäßig gewachsen. Einige Fäden durchzogen die Nährlösung. Bei Anwesenheit von 0,25% $Ca(NO_3)_2$ hatten sich in den Lösungen 2 gute Algenüberzüge gebildet, die aber weit hinter den Kulturen in 3 und 4 zurückblieben. Diese fielen durch ihr üppiges Wachstum sogleich ins Auge. Dicke Algenmassen überzogen die Kulturflüssigkeit, zum Teil waren die Fäden an der Glaswand hinaufgeklettert und zogen das Wasser kapillar nach sich, zum Teil bedeckten sie auch den Boden der Kölbchen. Was die Menge des Algenmaterials betraf, so wurden diese Kulturen von keiner anderen übertroffen, höchstens in Lösung 5 noch annähernd erreicht. In der Kultur 6 machte sich dagegen eine deutliche Abnahme der Algenmasse bemerkbar. Das Netz war dünner und zarter, und die Fäden hatten ein gelbes Aussehen bekommen. Kultur 7 hatte fast gar kein Wachstum hervorgebracht, die wenigen Fäden sahen vollkommen gelb aus, und ohne Stickstoff [8] war überhaupt keine Entwicklung eingetreten. Nur ganz wenige krankhaft aussehende Fäden schwammen in der Nährlösung. Die Mehrzahl der Fäden war farblos geworden und abgestorben.

Wie wir gesehen haben, war die reichlichste Algenentwickelung bei Oscillarien in Lösung 3 und 4 bei einem Stickstoffgehalt von 0,1% und 0,075% $Ca(NO_3)_2$ zu finden. Diese Konzentrationstufen sind somit die geeignetsten und als optimale Konzentrationen für diese Arten anzusehen.

Nostoc spec. hatte sich in den Kulturen 1 und 2 gar nicht entwickelt, in 3 und 4 war auch nur ein spärlicher Algenüberzug entstanden, während in Kultur 5 beide Kölbchen dicke Häute auf der Nährflüssigkeit aufwiesen. Kultur 6 zeigte auch noch gutes Wachstum, blieb aber hinter 5 erheblich zurück. 7 wies sehr schwaches Wachstum auf, und 8 war vollständig leer geblieben. Die übergeimpften Fäden waren nicht gewachsen und farblos geworden.

Aus dem Dargelegten geht hervor, daß sich Nostoc am besten in Lösung 5 bei einem Gehalt von 0,05% $Ca(NO_3)_2$ entwickelt hat. Diese Art ist demnach etwas anspruchsloser als die Oscillarien, da sie etwas weniger Stickstoff zu ihrer Entwicklung braucht.

Noch anspruchsloser ist Calothrix stellaris. Das beste Wachstum erhielt ich schon bei 0,025% Calciumnitrat in Lösung 6.

Annähernd gleiches Wachstum zeigten die Kulturen 5 und 7, während die stärkeren Konzentrationen 1, 2 und 3 gar kein Wachstum aufwiesen. Auch in Lösung 4 war dasselbe noch schwach.

Daß in den stärksten Konzentrationen kein Wachstum stattgefunden hat, liegt offenbar daran, daß eine höhere Konzentration wieder hemmend auf das Wachstum wirkt. Während die Oscillarien innerhalb der Reihe etwas höhere Konzentrationsstufen bevorzugen, ist dies bei Calothrix stellaris nicht der Fall. Trotz der geringen Stickstoffmengen, mit denen sich diese Art begnügt, erzielte ich reichliches Wachstum. Ohne Stickstoff wurde auch bei dieser Art nirgends Wachstum beobachtet, aber die Impfklümpchen erhielten sich regelmäßig über zwei Monate lang schön grün, während die Oscillarien und die anderen Arten längst farblos geworden waren. Die Erhaltung der grünen Farbe

deutet wiederum darauf hin, daß diese Art sehr wenig Stickstoff beansprucht. Damit stimmt überein, daß Calothrix stellaris bei Abwesenheit von Stickstoff lange Zeit am Leben bleibt und nicht abstirbt. Erst nach sehr langer Zeit macht sich der Stickstoffmangel auch bei ihr durch die gelbe Farbe bemerkbar.

Cylindrospermum licheniforme endlich unterscheidet sich in diesem Punkte nicht von den Oscillarien. Das beste Wachstum erzielte ich in Lösung 3, in der der Nitratgehalt 0,1% betrug.

Die Kulturen 2 und 4 waren auch noch gut, doch zeigten sie bereits eine geringere Entwicklung. 5 und 6 waren nur wenig gewachsen, 1, 7 und 8 waren überhaupt unverändert geblieben.

Wir haben gesehen, daß das optimale Wachstum für Oscillaria brevis, O. tenuis und Cylindrospermum licheniforme bei 0,1% beziehungsweise bei 0,075% Calciumnitratgehalt stattfindet, während Nostoc eine etwas niedrigere Konzentration 0,05% $Ca(NO_3)_2$ bevorzugt, und Calothrix stellaris gar erst in einer Konzentration von 0,025% $Ca(NO_3)_2$ sich am besten entwickelt. Eine erhebliche Steigerung der Konzentration wirkt dagegen hemmend auf das Wachstum, und eine starke Verminderung derselben hindert das Wachstum wegen eintretenden Stickstoffmangels. Bei Stickstoffausschluß ist bei allen Arten kein Wachstum möglich.

Äußerlich macht sich der Stickstoffmangel bei den Oscillarien, aber auch bei den anderen Arten durch eine allmähliche Verfärbung der grünen Fäden bemerkbar. Die Algen büßen ihre ursprüngliche Farbe ein und nehmen gelbe bis braune Farbentöne an. Dieser Prozeß kann schließlich so weit gehen, daß die Fäden verblassen und weiß werden. Das die gelben Fäden aber noch am Leben sind, beweist folgender Versuch. Fügt man nämlich den Kulturen frische Calciumnitratlösung hinzu, so ergrünen die Algen schon nach einigen Tagen wieder und nehmen ihre ursprüngliche Färbung an. Noch deutlicher wirken ein paar Körnchen festes Ammoniummagnesiumphosphat, das die Bedeutung des gebundenen Stickstoffs für das Zustandekommen der grünen Farbe sehr schön veranschaulicht. Ammoniummagnesiumphosphat ist sehr schwer löslich, und nur geringe Mengen diffundieren in die Nährlösung. Beim Hineinschütten einer Spur dieses Salzes in die Kölbchen bleiben die Körnchen gewöhnlich längere Zeit auf dem gelben Algennetz liegen. Nach einiger Zeit bilden sich an den Stellen, wo das Salz auf den Fäden liegt, kleine, grüne Kreise, die sich in dem Maße, in dem das stickstoffführende Salz in Lösung geht, vergrößern und schließlich sich über die ganze Haut ausdehnen. Ist aber der Stickstoff wieder aufgebraucht, dann macht sich alsbald die gelbe Farbe der Fäden wieder bemerkbar. Durch Darreichung von neuem Stickstoffsalz kann man die gelbe Farbe wieder rückgängig machen und den Farbenwechsel beliebig oft wiederholen.

Angesetzt am 24. April 1913. **Versuch 1.** Ergebnis am 7. Juni 1913.

Bestimmung des optimalen Wachstums in verschiedenen $Ca(NO_3)_2$-Konzentrationen.

Stammnährlösung: 0,02% K_2HPO_4 + 0,02% $MgSO_4$ + 7 H_2O + Spur $CaSO_4$ und $Fe_2(PO_4)_2$ in dopp. dest. H_2O.

Konzentration	Lösung 1. 0,5% $Ca(NO_3)_2$	Lösung 2. 0,25% $Ca(NO_3)_2$	Lösung 3. 0,01% $Ca(NO_3)_2$	Lösung 4. 0,075% $Ca(NO_3)_2$	Lösung 5. 0,05% $Ca(NO_3)_2$	Lösung 6. 0,025% $Ca(NO_3)_2$	Lösung 7. 0,01% $Ca(NO_3)_2$	Lösung 8. Stickstoffrei.
Oscillaria brevis aus Petrischale auf Kieselsäuregall. vom 16. 3. 1913.	Mäßig gewachsen, nur wenige Fäden entwickelt.	Guter Überzug auf der Nährflüssigkeit.	Sehr dicke Haut, **beste Kultur.**	Sehr dicke Haut, wie in 3.	Auch noch starke Haut, aber weniger.	Zartes Netz, die Fäden sind gelb geworden.	Sehr zartes Netz, gelb, kaum gewachsen.	Gar nicht gewachsen. Fäden weiß, tot.
Oscillaria tenuis, Reinkultur aus Heydenagarröhrchen vom 13. 3. 1913.	Mäßig gewachsen, wenig Fäden.	Schon ausgedehntes Algennetz.	Sehr dichtes Netz, **beste Kultur.**	Dichtes Netz, kein erheblicher Unterschied zwischen 3 u. 4.	Netz etwas dünner als bei 4.	Dünnes Netz, gelblich aussehend.	Wenig gewachsen, einige Fäden farblos.	Gar nicht gewachsen, Fäden farblos.
Nostoc spec., Reinkultur aus Heydenagarröhrchen vom 3. 3. 1913.	Kaum gewachsen.	Nur wenig gewachsen.	Leidliches Algennetz.	Ungefähr wie in 3, eine Kultur etwas mehr gewachsen.	Dickes Algennetz in beiden Kulturen, **bestes Wachstum.**	Auch gut gewachsen, aber weniger als in 5. Fäden am Rande des Netzes gelb.	Sehr zartes Netz, sieht gelb aus.	Nicht gewachsen, Impfklümpchen gelb.
Calothrix stellaris aus Petrischale vom 16. 3. 1913.	Impfklümpchen nicht gewachsen.	Impfklümpchen kaum vermehrt.	Zartes Häutchen auf der Oberfläche.	Zartes Häutchen wie in 3.	Weiter gewachsen, hübsche Haut.	Sehr dicke Haut mit vielen dunkelgrünen Algencentren, **bestes Wachstum.**	Hübsches Netz, etwa wie in 4.	Impfklümpchen nicht gewachsen, aber noch schön grün.
Cylindrospermum licheniforme aus Petrischale vom 16. 3. 1913.	Impfklümpchen sieht schlecht aus.	Etwas vermehrt, sieht gut aus.	Sehr schöne Haut, **beste Kultur.**	Sehr schöne Haut.	Auch gut gewachsen, aber weniger Algenmenge als bei 4.	Wenig gewachsen, sehr kleine Algenmenge.	Nicht gewachsen, Impfklümpchen farblos.	Nicht gewachsen, die Alge ist farblos geworden.

Während ich mich mit der Erscheinung der Farbenänderung bei Cyanophyceen beschäftigte, erschien zu derselben Zeit eine Arbeit von Magnus und Schindler[1]), die von dem Einfluß der Nährsalze auf Oscillarien handelte. Die Verfasser weisen nach, daß die Gelbfärbung der Blaualgen auf zu geringem Stickstoffgehalt der Nährlösung beruht. Reichliche Stickstoffzufuhr bedingt das Auftreten der ursprünglichen grünen Farbe, auch ist es gleich, ob die hinzugefügte N-Quelle als Nitrat oder Ammonsalz vorliegt. Die ökologische Bedeutung der Gelbfärbung soll in der Abnahme der für die Assimilation wirksamen Farbstoffe zu suchen sein, damit die Algen vor schweren ernährungsphysiologischen Störungen bewahrt bleiben.

Außer diesen beiden Autoren ist noch K. Boresch[2]) zu nennen, der eingehende Studien mit der Blaualge, Phormidium corium, angestellt hat. Er beobachtete ebenfalls bei Stickstoffmangel eine Braun- bis Gelbfärbung, die sich bei erneuter Darreichung von Stickstoffverbindungen als rückgängig erwies. — Alle diese Angaben der eben genannten Autoren habe ich durch eigene Versuche bestätigt gefunden.

Bestimmung des optimalen Wachstums in verschiedenen Kaliumnitrat-Konzentrationen.

Die Versuche wurden in derselben Weise ausgeführt, wie die mit den vorhin besprochenen Calciumnitrat-Konzentrationen. Die Nährlösung bestand aus:

1) 0,5% KNO_3 + 0,02% K_2HPO_4 + 0,02% $MgSO_4 + 7H_2O$ + Spuren $CaSO_4$
2) 0,1% = = = und $Fe_2(PO_4)_2$ in dopp.
3) 0,05% = = = dest. Wasser.
4) 0,025% = = =
5) 0,01% = = =
6) Kein Stickstoff = =

Zum Versuche wurden sämtliche von mir kultivierten Arten herangezogen: Oscillaria brevis, O. tenuis und Nostoc spec. aus Reinkultur, Calothrix stellaris und Cylindrospermum licheniforme.

Beginn des Versuches am 29. Januar 1913. Ende am 13. März 1913.

Am 3. Februar waren die Oscillarien, Nostoc und Cylindrospermum in den Lösungen 3 bis 5 gut auseinander gekrochen, und die Fäden hafteten bereits an der Glaswand. In den übrigen Kulturen waren die Impfklümpchen in der Nährflüssigkeit untergesunken und lagen lose am Boden der Gefäße, Calothrix stellaris hatte sich in allen Lösungen noch nicht verändert.

Am 21. Februar hatten sich die Oscillarien in den Lösungen 4 und 5 bereits kräftig vermehrt. In sämtlichen Kölbchen hatte sich an der Glas-

[1]) Magnus und Schindler, Über den Einfluß der Nährsalze auf die Oscillarien. Ber. d. deutsch. bot. Ges. 1912. Bd. 30. S. 314.

[2]) K. Boresch, Zur Physiologie der Blaualgenfarbstoffe. Lotos LVIII. Prag 1910.

wand nach der Fensterseite hin ein schöner Belag gebildet. Die zahlreichen Blasen, die von den Algenfäden festgehalten wurden, deuteten auf einen reichlichen Gasaustausch hin. Kultur 3 war bis jetzt wenig gewachsen, 2 zeigte nur eine schwache Ausbreitung der Fäden, während 1 und 6 bereits eingegangen waren. Bei 1 war offenbar die Konzentration zu hoch, und Kultur 6 konnte sich infolge des Stickstoffmangels nicht entwickeln. Diese Kulturen wurden der Sicherheit wegen noch einmal geimpft. — In der Hauptsache schließen sich die übrigen Arten den Oscillarien an. Sie unterscheiden sich von ihnen dadurch, daß sie auf die schwächste Konzentration [5] angewiesen sind, da nur in dieser eine gute Vermehrung der Algensubstanz stattgefunden hat, während das Wachstum in den nächst höheren Konzentrationen schon als mäßig bezeichnet werden muß.

Am 13. März, nach 1½ monatlicher Versuchsdauer, war das Ergebnis bei den einzelnen Arten folgendes: Oscillaria brevis war am besten in Lösung 4 gewachsen bei einem Kaliumnitratgehalt von 0,025%.

Ohne Stickstoff war, wie schon bei den Calciumnitratversuchen erwähnt wurde, kein Wachstum möglich.

Die Kulturen in 3 und 5 waren ungefähr gleich gut gewachsen, doch blieb die erzeugte Algenmasse hinter 4 deutlich zurück, und in den Lösungen, die sich der stärksten Konzentration näherten, war eine gleichmäßig fortschreitende Abnahme der Entwicklung zu konstatieren. Lösung 1 zeigte auch nach dem Wiederimpfen krankhaft aussehende Fäden. Die Konzentration ist zu hoch, um eine gedeihliche Vermehrung zu gestatten.

Mit Oscillaria tenuis erhielt ich die besten Kulturen in Lösung 5 bei einem Gehalt von 0,01% Kaliumnitrat. Aber eine Vermehrung hatte seit dem 21. Februar in dieser Kultur kaum noch stattgefunden. Im Gegenteil, das Wachstum war nach einer anfänglich vorzüglichen Entwicklung auf dieser Stufe stehen geblieben. Teilweise hatten die Fäden begonnen sich zu verfärben, und die Kultur machte einen krankhaften Eindruck. Diese Art ist empfindlicher gegen höhere Konzentrationen als Oscillaria brevis, was schon daraus hervorgeht, daß sie in den nächst höheren Konzentrationen nicht so üppig gewachsen ist wie die eben genannte Art. Der Oscillaria tenuis sind die Nostoc spec. und Cylindrospermum licheniforme gleich zu stellen. Aus den mehrmals hintereinander angesetzten Versuchen ging mit Bestimmtheit hervor, daß in der schwächsten Konzentration [5] anfangs immer das beste Wachstum erhalten wurde. Ein Anwachsen der Konzentration nach oben erwies sich jedesmal als schädlich. — Aber auch bei diesen Arten machte sich dieselbe Erscheinung geltend wie bei Oscillaria tenuis. Nachdem dieselben in den niedrigen Konzentrationen bis zum 21. Februar gutes Wachstum gezeigt hatten, hörte es ungefähr drei Wochen nachdem geimpft worden war, auf. Die Nostocfäden ballten sich zusammen und bildeten am Boden der Kölbchen eine Kugel. In diesem Zustande beharrte diese Art

einige Wochen lang, dann wurde das Ganze gelblich und starb allmählich ab. Bei Cylindrospermum licheniforme ging der Prozeß des Absterbens wesentlich schneller vor sich. Das grüne Algennetz nahm anfänglich hellere Farbentöne an, bis es schließlich, allerdings nach sehr langer Zeit, ganz farblos wurde, und der Tod eintrat. Man könnte nun einwenden, daß auch hier Stickstoffmangel die Ursache sei, die eine Verfärbung der Algenfäden bedinge und dann das Wachstum hemme. Dies ist aber hier nicht der Fall; denn die Kulturen blieben dauernd geschädigt auch bei Hinzugabe von neuem Stickstoffsalz. Eine Erklärung hierfür wird unten gegeben werden.

Auch die letzte Art, Calothrix stellaris, hielt sich mit ihrem Optimum in der Nähe der unteren Grenze bei einem Kaliumnitratgehalt von 0,025% und 0,01%. Nur einmal wurde in einem Kölbchen in einer etwas höheren Konzentration bei 0,05% KNO_3 noch gutes Wachstum festgestellt. Der Fall blieb aber vereinzelt. Immerhin ist der Unterschied in der Konzentrationsreihe von 0,05% bis 0,01% nicht sehr groß, auch gelingt es nicht immer, ganz scharfe Grenzen zu ziehen.

In der Hauptsache haben wir gesehen, daß fast sämtliche zu unserem Versuche herangezogenen Algen sich am besten in der niedrigsten Konzentration (0,01% KNO_3) entwickelt haben. Diese Tatsache steht in einem schroffen Gegensatze zu dem Verhalten der Blaualgen in Calciumnitratlösungen. Hier wurden im wesentlichen die höheren Konzentrationen (0,1% $Ca(NO_3)_2$) von meinen Cyanophyceen bevorzugt. Eine Erklärung gibt Pringsheim[1]) in seiner Arbeit „Zur Physiologie der Schizophyceen“. Der Verfasser meint, daß die Verwertbarkeit der Nitrate von der Beschaffenheit des Kations abhängig sei. Ist in der Nährlösung das Nitratanion aufgebraucht worden, so verbindet sich das Kation mit der Kohlensäure der Luft entweder zu unlöslichem oder zu dissoziiertem Karbonat. Wenn der letztere Fall eingetreten ist, dann wird die Nährlösung stärker alkalisch als die Algen vertragen können. Oscillaria tenuis verträgt nun zwar etwas Basicität, bei weiterem Wachstum macht sie aber die Kaliumnitratlösung stärker alkalisch und geht nach anfänglich guter Vermehrung ein, während Oscillaria brevis ziemlich unempfindlich gegen die Reaktion der Lösung ist. Diese Deutung findet nicht nur auch durch meine Versuche in verschiedenen KNO_3-Konzentrationen für Oscillaria tenuis eine Stütze, sondern ich bin in der Lage noch zwei weitere Fälle anzuführen.

Oben haben wir gesehen, daß nach anfänglich gutem Wachstum Nostoc und Cylindrospermum licheniforme anfingen zu kränkeln und einzugehen. Eine Untersuchung der Nährlösung mit Neutralrot als

---

[1]) E. G. Pringsheim, Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen. (III. Mitteilung.) Diese Beiträge. Bd. XII. 1913. S. 75.

Angesetzt am 29. Januar 1913. **Versuch 2.** Ende am 13. März 1913.

Bestimmung des optimalen Wachstums in verschiedenen KNO_3-Konzentrationen.

Stammnährlösung: 0,02% K_2HPO_4 + 0,02% $MgSO_4 + 7H_2O$ + Spur $CaSO_4$ und $Fe_2(PO_4)_2$ in dopp. dest. Wasser.

Konzentration	Datum	Lösung 1. 0,5% KNO_3	Lösung 2. 0,1% KNO_3	Lösung 3. 0,05% KNO_3	Lösung 4. 0,025% KNO_3	Lösung 5. 0,01% KNO_3	Lösung 6. Stickstoffrei.
Oscillaria brevis aus Petrischale vom 3. 12. 1912.	21. 2.	Eingegangen, wiedergeimpft.	Fäden ausgebreitet, etwas vermehrt.	Zarte Haut, wenig gewachsen.	An der Fensterseite schöner Belag.	Schöner Belag wie in 4.	Eingegangen, wiedergeimpft
	13. 3.	Nicht gewachsen.	Minimales Wachstum.	Hübsche Haut und Belag an der Glaswand.	Sehr dicker Randbelag, **beste Kultur.**	Auch gut gewachsen, dicker Belag, etwas weniger.	Nicht gewachsen.
Oscillaria tenuis aus Petrischale vom 3. 12. 1912.	21. 2.	Nicht gewachsen, wiedergeimpft.	Fäden ausgebreitet, nicht viel gewachsen.	Noch nicht viel vermehrt.	Zarte Haut nach der Fensterseite, sieht gut aus.	Dicker Randbelag, **beste Kultur.**	Nicht gewachsen.
	13. 3.	Nicht gewachsen.	Kaum gewachsen.	Nicht weiter gewachsen	Nicht weiter gewachsen, sieht krank aus.	Dicke Algenmassen, aber nicht weit. verm., kränkl.	—
Nostoc spec. aus Petrischale vom 3. 12. 1912.	21. 2.	Noch grün.	Fäden ausgebreitet, nicht viel gewachsen.	Die Fäden vereinigen sich zu Kugeln.	In beiden Kölbchen schöner Randbelag, gut gewachsen.	Sehr schöner Belag, **sieht am besten aus.**	Noch grün, aber nicht gewachsen.
	13. 3.	Nicht gewachsen.	Etwas vermehrt.	Nicht mehr gewachsen.	Die Fäden haben sich zu einer Kugel zusammengeballt.	Nicht mehr gewachsen, dicker Klumpen, Fäden werden gelb.	—
Cylindrospermum licheniforme aus Petrischale vom 3. 12. 1912.	21. 2.	Abgestorben, wiedergeimpft.	Farbl. Algenm., wiedergeimpft.	Kl. Hof um das Impfklümpchen.	Schöne Haut, gut gewachsen.	Noch größer als in 4, **beste Kultur.**	Farblos, wiedergeimpft.
	13. 3.	Tot.	Tot.	Nicht weiter gewachsen.	Kaum verm., d. Kulturen büßen ihre Farbe ein.	Nicht weiter gew. Einige Fäden werden hellgelb.	Eingegangen.
Calothrix stellaris aus Petrischale vom 14. 11. 1912.	21. 2.	Noch grün.	Impfklümpchen kaum vermehrt.	Schwaches Häutchen.	Zarte Haut, nicht viel mehr als in 3.	Schöne Haut u. Bodenüberzug, **beste Kultur.**	Impfklümpchen noch grün.
	13. 3.	Gelb.	Schwache Haut, gelblich.	1. Kultur schwache Haut, 2. dichter Überzug.	Zarte Haut, nicht viel vermehrt, sieht gut aus.	Nicht mehr gewachsen, sieht aber noch gut aus.	Gelblich grün.

Indikator deutete auf Alkalität hin, die in einigen Fällen die von 0,02% K_2HPO_4 an Stärke übertraf. So dürfte es zusammenhängen, daß diese Arten bei Anwesenheit von Kaliumnitrat nur innerhalb enger Grenzkonzentrationen wachsen können, während das „physiologisch neutrale" Calciumnitrat nach Pringsheims Ansicht und nach meinen vorliegenden Erfahrungen bedeutend günstiger auf das Wachstum einwirkt.

Bestimmung des optimalen Wachstums in verschiedenen Kaliumnitritkonzentrationen.

Den Nachweis, daß in Nitritversuchen die Blaualgen tatsächlich das NO_2' als Stickstoffquelle zum Aufbau der Körpersubstanz gewinnbringend verwerten können, hatte schon Pringsheim, wie ich oben erwähnte, bei Oscillaria tenuis geführt. Er benutzte das Kaliumsalz der salpetrigen Säure bei schwach basischer Reaktion und Anwesenheit von Calciumsalzen mit gutem Erfolg.

Neben Pringsheim ist noch Boresch[1]) zu nennen, der sich bei den Ergrünungsversuchen gelb gewordener Cyanophyceen sowohl des Kalium- als auch des Natriumnitrits bediente. Doch sind die Versuche, da die Nitrite geringe Spuren Nitrat enthielten, nur mit einem gewissen Vorbehalt aufzunehmen. Sonst sind mir in der Literatur keine weiteren Fälle bekannt, wo das Nitrit als N-Quelle mit Erfolg bei Algenkulturen zur Verwendung gelangte.

Schon früher, ehe ich zu der systematischen Durchführung der einzelnen Kaliumnitritkonzentrationen schritt, war mir aufgefallen, daß Oscillaria tenuis in gelegentlich angesetzten Kaliumnitritkulturen recht gut gedieh. In einer 0,01% Kaliumnitritlösung wuchs diese Art einen Monat lang ausgezeichnet, und ich kam zu dem Schluß, Kaliumnitrit als annehmbare N-Quelle für diese Blaualge hinzustellen. Ob sich die anderen Arten genau so verhalten würden, war mir damals noch nicht bekannt, und ich hielt es für nicht uninteressant, der Frage näher auf den Grund zu gehen.

Am 15. Juli 1913 wurden sämtliche Arten in folgende Nährlösungen geimpft.

1) 0,5% KNO_2 + 0,02% K_2HPO_4 + 0,02% $MgSO_4 + 7H_2O$ + Spur $CaSO_4$
2) 0,1% = = = und $Fe_2(PO_4)_2$ in dopp
3) 0,05% = = = dest. Wasser.
4) 0,025% = = =
5) 0,01% = = =
6) Kein Stickstoff = =

[1]) K. Boresch, Zur Physiologie der Blaualgenfarbstoffe. Lotos LVIII. Prag 1910. S. 170.

Von meinen Arten lagen Oscillaria tenuis und Nostoc spec. in Reinkultur vor, O. brevis, Cylindrospermum licheniforme und Calothrix stellaris waren nur speziesrein. Das Ergebnis war am 17. August, ungefähr nach einem Monat, folgendes.

Oscillaria brevis und O. tenuis waren in den Lösungen 5 bei 0,01% Nitritgehalt am besten gewachsen.

Auf der Oberfläche der Kulturflüssigkeit schwammen dicke Netze. Die Kulturen 3 und 4 waren auch gut gewachsen, doch erreichte die erzeugte Algenmenge bei weitem nicht mehr die in Kultur 5. Die übrigen Kulturen dagegen waren bei stetiger Zunahme der Konzentration schlecht gewachsen. Meine frühere Erfahrung, daß O. tenuis bei geringer Anwesenheit von Nitrit gut wuchs, konnte ich nun auch auf O. brevis ausdehnen. Gleichaltrige Kulturen, die zur Kontrolle Kaliumnitrat enthielten, unterschieden sich nicht von Nitritkulturen.

Ganz anders verhielten sich aber Nostoc und die übrigen Arten. Nur in der niedrigsten Konzentration [5] war noch leidliches Wachstum vorhanden, in der nächst höheren aber hatten sich die Fäden zum Teil zusammengeballt. Wenige spärliche Algenstränge durchzogen die Nährlösung, ohne daß rechtes Wachstum zu konstatieren war. Die Algen bekamen bald gelbes Aussehen und kränkelten.

Auch Cylindrospermum licheniforme entwickelte sich nur mäßig in der niedrigsten Konzentration (0,01%). Die anderen Kulturen in stärkerer Nitritlösung gingen ein und zeigten kein oder sehr spärliches Wachstum. Etwas besser gedieh Calothrix stellaris. Die beste Kultur erhielt ich aber auch nur bei 0,01% Kaliumnitritgehalt, während die übrigen Kölbchen geringes Wachstum zeigten.

Das Resultat ist daraufhin so zusammen zu fassen, daß Kaliumnitrit, in sehr geringer Konzentration (0,01%) angewandt, für Oscillarien als gute N-Quelle dienen kann, daß es sich aber für meine übrigen Arten als ungünstig erwiesen hat.

Ammoniumverbindungen.

Bisher war der Stickstoff in den Nitrat- und Nitritversuchen als Anion dargeboten worden, und es hatte sich herausgestellt, daß die einzelnen Verbindungen einen verschiedenen Grad der Giftigkeit an den Tag legten. Im folgenden wird es nun meine Aufgabe sein, auch einige Ammoniumsalze daraufhin zu untersuchen und in ihren Lösungen die Wachstumsgrenzen festzustellen. Die Verwendbarkeit des Ammonstickstoffs hat sich nicht nur für Grünalgen, sondern auch für Cyanophyceen ergeben. Ich erinnere vor allem an die schon oben erwähnten unter Stickstoffquellen angeführten Versuche von Pringsheim, wo verschiedene Ammoniumverbindungen erfolgreich für Blaualgenkulturen verwertet wurden, während Boresch und Schindler Ammoniumsalze nur bei den Ergrünungsversuchen gelbgewordener Cyanophyceen benutzten.

Versuch 3.

Angesetzt am 15. Juli 1913. — Ergebnis vom 17. August 1913.

Bestimmung des optimalen Wachstums in verschiedenen Kaliumnitritkonzentrationen.

Stammnährlösung: 0,02% K_2HPO_4 + 0,02% $MgSO_4$ + $7H_2O$ + Spur $CaSO_4$ und $Fe_2(PO_4)_2$ in dopp. dest. Wasser.

Konzentration.	Lösung 1. 0,5% KNO_2	Lösung 2. 0,1% KNO_2	Lösung 3. 0,05% KNO_2	Lösung 4. 0,025% KNO_2	Lösung 5. 0,01% KNO_2	Lösung 6. 0 KNO_2
Oscillaria brevis aus Petrischale auf Kieselsäuregel, vom 12. 6. 1913.	Nicht gewachsen, Impfklümpchen gelb.	Sehr zartes Netz.	Schöne Haut.	Haut noch größer als in 3.	Sehr dicke Haut, **beste Kultur.**	Gelbliche Fäden, nicht gewachsen.
Oscillaria tenuis, Reinkultur aus Heydenagarröhrchen vom 6. 6. 1913.	Nicht gewachsen.	An der Fensterseite zarter Belag.	Wie in 2, aber mehr gewachsen.	Dichtes Netz, gut gewachsen.	Sehr dichtes Netz, **sehr gut gewachsen.**	1. Schwach vermehrt, 2. Fäden nicht gewachsen.
Nostoc spec., Reinkultur aus Heydenagarröhrchen vom 6. 6. 1913.	Die Fäden sehen gelb aus.	Nicht gewachsen.	Am Boden kleine grüne Stellen, aber kaum gewachsen.	Das gleiche Verhalten wie in 3, einzelne Fäden in der Lösung.	Etwas mehr gewachsen, im ganzen mäßiges Wachstum.	Nicht gewachsen.
Cylindrospermum licheniforme aus Petrischale vom 12. 6. 1913.	Die Fäden sind farblos geworden.	1. Nicht gewachsen. 2. Impfklümpchen noch grünlich.	Nicht gewachsen.	Wenig vermehrt.	1. Am Boden grüner Überzug. 2. An der Oberfläche kleines Netz.	Eingegangen.
Calothrix stellaris aus Petrischale vom 12. 6. 1913.	Impfklümpchen noch grünlich.	Wie in 1.	Impfklümpchen etwas vermehrt.	Zartes Häutchen.	Dichtes Häutchen, die meiste Algenmenge gebildet.	Noch grün, nicht gewachsen.

Bestimmung des optimalen Wachstums in Lösungen mit Ammoniumsulfat.

Die Nährlösungen bestanden aus:

1) 0,5% $(NH_4)_2SO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + 0,02% $MgSO_4$ + $7H_2O$ + Spur $CaSO_4$
2) 0,1% " " " und $Fe_2(PO_4)_2$ in
3) 0,05% " " " dopp. dest. Wasser.
4) 0,025% " " "
5) 0,01% " " "
6) — " " "

Am 12. Juli 1913 wurden alle Arten, die schon bei den früheren Stickstoffversuchen verwendet worden waren, in die Lösungen geimpft. Das Resultat war am 15. August, nachdem schon vorher zweimal protokolliert worden und die ausgebliebenen Kulturen frisch geimpft worden waren, folgendes: Das Wachstum war im allgemeinen in Ammoniumsulfatkulturen bei den Oscillarien leidlich, bei den übrigen Arten mäßig oder schlecht. Wie aus untenstehender Tabelle ersichtlich ist, hatten sich die Oscillarien am besten in Lösung 5 entwickelt. Was aber die erzeugte Algenmenge anbelangt, so war sie gering und stand in gar keinem Verhältnis zu Kalium- oder Calciumnitratkulturen. Die übrigen Kulturen hatten sich bei höherem Ammonsulfatgehalt kaum noch vermehrt, und das Wachstum war völlig zum Stillstand gekommen. Die Nostoc-Kulturen waren zum größten Teil noch schlechter gewachsen, nur bei Gegenwart von wenig Sulfat (0,01%) hatten die Fäden ein zartes Netz gebildet. Die Algenmengen waren durchweg gering. Auch Cylindrospermum licheniforme wuchs nur bei 0,25% und 0,01% Ammonsulfatgehalt, in den nächst stärkeren Konzentrationen war die Alge nicht gewachsen. Sie wurde farblos und starb bald ab. Sehr mäßiges Wachstum ließ Calothrix stellaris erkennen. Die Impfklümpchen waren zum Teil grün geblieben, zeigten aber nur geringe Vermehrung. In den beiden untersten Konzentrationen 0,025% und 0,01% waren sie etwas größer geworden, auch schwamm auf der Nährflüssigkeit ein zartes Häutchen.

Abgesehen von den Oscillarien, denen Ammonsulfat in schwacher Konzentration noch eine einigermaßen befriedigende Entwicklung gestattete, erwies sich dasselbe für die übrigen Arten durchaus ungeeignet. Wachstum wurde nur in Lösung 5 bei allen Arten erhalten, im Grunde genommen war dasselbe doch gering und kein gutes. Eine Untersuchung der Reaktion der Nährlösung ergab in den Kulturen, wo Wachstum stattgefunden hatte, schwache Acidität. Ist dieser Zustand erreicht, dann gehen die Kulturen nach anfänglichem Wachstum zu Grunde. Demnach kommt es bei der Verwertbarkeit des Ammoniumsulfats auf die physiologische Eignung des Säurerestes sehr an.

Versuch 4.

Angesetzt am 12. Juli 1913. — Nachgesehen am 15. August 1913.

Bestimmung des optimalen Wachstums in Lösungen mit Ammoniumsulfat.

Stammnährlösung: 0,02% K_2HPO_4 + 0,02% $MgSO_4$ + $7H_2O$ + Spur $CaSO_4$ und $Fe_2(PO_4)_2$ in dopp. dest. Wasser.

Konzentration.	Lösung 1. 0,5% $(NH_4)_2SO_4$	Lösung 2. 0,1% $(NH_4)_2SO_4$	Lösung 3. 0,05% $(NH_4)_2SO_4$	Lösung 4. 0,025% $(NH_4)_2SO_4$	Lösung 5. 0,01% $(NH_4)_2SO_4$	Lösung 6. 0 $(NH_4)_2SO_4$
Oscillaria brevis aus Petrischale vom 12. 6. 1913.	Fäden gelb.	Fäden auseinandergekrochen, nicht gewachsen.	Zarter Randbelag.	Ausgedehntes Häutchen auf der Oberfläche.	Stärkere Haut, **am meisten gewachsen.**	In einer Kultur etwas ausgebreitet, in der anderen tot.
Oscillaria tenuis, Reinkultur aus Heydenagarröhrchen vom 6. 6. 1913.	Fäden farblos.	Fäden zusammengeballt, kaum gewachsen.	Wie in 2, in einer Kultur vermehrt.	Etwas mehr als in 3, Fäden in dicken Klumpen.	Großer Klumpen, **größte Algenmenge.**	Fäden bleich.
Nostor spec., Reinkultur aus Heydenagarröhrchen vom 6. 6. 1913.	Zum 2. Male eingegangen.	Noch grün, nicht gewachsen.	Fäden am Boden kriechend, wenig gewachsen.	Wie in 3, außerdem grünes Rändchen in einer Kultur.	Grüner Bodenbelag, Algenmenge nicht sehr viel.	Abgestorben.
Cylindrospermum licheniforme aus Petrischale vom 12. 6. 1913.	Zum 2. Male eingegangen.	Noch grünlich, nicht gewachsen.	Impfklümpchen vermehrt.	Algenmenge größer als in 3, leidlich gewachsen.	Noch besser, gutes Wachstum, Algenmenge aber gering.	Sieht schlecht aus.
Calothrix stellaris aus Petrischale vom 12. 6. 1913.	Impfklümpchen gelblich.	Impfklümpchen kaum größer geworden.	Wachstum ist vorhanden gewesen, ruht aber.	Zarte Haut auf der Oberfläche.	Dichtere Haut, der Unterschied zwischen 4 und 5 ist aber nicht groß.	Impfklümpchen noch grün, nicht vermehrt.

Bestimmung der optimalen Konzentration von Ammoniumphosphatlösungen.

Die Nährlösung bestand aus:

1) 0,5% $(NH_4)_2HPO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + 0,02% $MgSO_4 + 7H_2O$ + Spur $CaSO_4$
2) 0,1% " " " und $Fe_2(PO_4)_2$ in
3) 0,05% " " " dopp. dest. Wasser.
4) 0,025% " " "
5) 0,01% " " "
6) — " " "

Als Versuchsalgen dienten Oscillaria brevis, O. tenuis, Nostoc spec., Cylindrospermum licheniforme und Calothrix stellaris.

Am 27. Juni 1913 wurden die Lösungen geimpft. Das Impfmaterial stammte teils aus Petrischalen mit Kieselgall., in denen Oscillaria brevis, Cylindrospermum licheniforme und Calothrix stellaris speziesrein gezüchtet wurden, teils aus Heydenagarröhren, in denen O. tenuis und Nostoc bakterienrein kultiviert worden waren. Das Versuchsergebnis war nach einem Monat, am 25. Juli, folgendes:

Oscillaria brevis hatte sich am besten in Lösung 2 und 3 entwickelt. Auf der Kulturflüssigkeit war in sämtlichen Kölbchen eine dicke, braungrüne Haut angelegt worden. In den übrigen Lösungen dagegen war nur mäßiges oder gar kein Wachstum zu konstatieren, sobald eine zu starke Verringerung oder eine Vermehrung des Stickstoffgehaltes stattfand.

Oscillaria tenuis war am besten bei einem Gehalt von 0,025% Ammoniumphosphat gediehen. Die Kulturen in den nächst höheren Konzentrationen 2 und 3 waren ganz bedeutend hinter denen von Oscillaria brevis zurückgeblieben. Auch hier trat die größere Anpassungsfähigkeit der letztgenannten Art an höhere Konzentrationen deutlich hervor.

Die übrigen Arten zeigten in ihrem Wachstum untereinander keine erheblichen Unterschiede. Alle bevorzugten eine niedrige Konzentration der Lösung und zeigten in derselben das beste Wachstum. So hatte Nostoc die größte Algenmenge in Lösung 4 und 5 erzeugt. Auch Cylindrospermum ließ in den Kulturen mit gleichem Stickstoffgehalt eine sehr gute Entwicklung erkennen. Calothrix stellaris endlich war am besten in Lösung 5 gewachsen bei Gegenwart von 0,01% Ammoniumphosphat. Die höheren Konzentrationen wiesen nur mäßiges oder gar kein Wachstum auf. Nach den erhaltenen Algenmengen zu urteilen, erweist sich das sekundäre Salz des Ammoniumphosphates für Blaualgenkulturen besonders günstig. Es ist an sich basisch. Auch sind die entstehenden primären Phosphate weniger ionisiert als primäre Sulfate.

Versuch 5.

Angesetzt am 27. Juni 1913. — Ergebnis am 25. Juli 1913.

Bestimmung der optimalen Konzentration von Ammoniumphosphatlösungen.

Stammnährlösung: 0,02% K_2HPO_4 + 0,02% $MgSO_4$ + $7H_2O$ + Spur $CaSO_4$ und $Fe_3(PO_4)_2$ in dopp. dest Wasser.

Konzentration.	Lösung 1. 0,5% $(NH_4)_2HPO_4$	Lösung 2, 0,1% $(NH_4)_2HPO_4$	Lösung 3. 0,05% $(NH_4)_2HPO_4$	Lösung 4. 0,025% $(NH_4)_2HPO_4$	Lösung 5. 0,01% $(NH_4)_2HPO_4$	Lösung 6. 0 $(NH_4)_2HPO_4$
Oscillaria brevis aus Petrischale auf Kieselsäuregel. vom 2. 6. 1913.	Fäden nur wenig auseinander gekrochen, nicht gewachsen.	Schöne dicke Haut, **beste Kultur.**	Dicke Haut, wie in 2.	Zartes Netz, an der Fensterseite stärker.	Wenig vermehrtes Netz, Fäden werden gelb.	Fäden ausgebreitet, aber kaum gewachsen.
Oscillaria tenuis, Reinkultur aus Heydenagar-röhrchen vom 26. 5. 1913.	Dichtes Klümpchen, kaum vermehrt.	Am Boden fein ausgebreiteter Überzug, wenig gewachsen.	Dicke grüne Kugeln, vermehrt.	Netz mit dichten Strängen, **beste Kultur.**	Dicke Algenmenge am Rande des Gefäßes, Algenmenge etwas weniger als in 4.	Nicht gewachsen.
Nostoc spec. Reinkultur aus Heydenagar-röhrchen vom 26. 5. 1913.	Impfklümpchen bleich geworden.	Grüne Stellen am Boden.	Mehr gewachsen, sonst wie in 2.	Dichtes Netz und Bodenüberzug, **beste Kultur.**	Dichtes Netz, etwas dünner, auch noch gut.	Impfklümpchen farblos.
Cylindrospermum licheniforme auf Kieselsäuregel. vom 2. 6. 1913.	Impfklümpchen sieht schlecht aus.	Um das Impfklümpchen neue Algenmenge, noch gering.	Schöne Haut um das Impfklümpchen.	An der Fensterseite viel Algenmasse, **beste Kultur.**	Am Boden feiner Überzug.	Nicht gewachsen.
Calothrix stellaris aus Petrischale auf Kieselsäuregel. vom 2. 6. 1913.	Noch grün, nicht gewachsen.	Am Boden kleine neue Algenzentren.	Wie in 2, außerdem auf der Oberfläche zartes Häutchen.	Dichte Haut, gute Kultur.	Wie in 4, etwas mehr Algenmasse, **beste Kultur.**	Impfklümpchen noch grün.

Bestimmung der optimalen Konzentration von Ammoniumnitratlösungen.

In den bis jetzt besprochenen Ammoniumverbindungen lag der Stickstoff als Bestandteil des Kations vor, und wie wir oben gesehen haben, wurde er mit gutem Erfolg in Ammoniumphosphatlösungen von den Blaualgen ausgenützt. Interessant war es nun, das Verhalten der Blaualgen in Ammoniumnitratlösungen zu untersuchen, wo ihnen neben dem Kation $NH_4^{\cdot}$ auch noch das gut assimilierbare NO_3' dargeboten wird.

Die Nährlösung bestand aus:

1) 0,5% NH_4NO_3 + 0,02% K_2HPO_4 + 0,02% $MgSO_4 + 7H_2O$ + Spur $CaSO_4$
2) 0,1% " " " und $Fe_2(PO_4)_2$ in
3) 0,05% " " " dopp. dest. Wasser.
4) 0,025% " " "
5) 0,01% " " "

In die Lösungen wurden am 7. Juni alle Arten, die bei den vorhergehenden Versuchen verwendet wurden, geimpft. Das Resultat war am 21. Juli folgendes. Wie aus unten stehender Tabelle 6 hervorgeht, wuchsen die Oscillarien, wenn ihnen als Stickstoffquelle Ammoniumnitrat geboten wurde, am besten in Lösung 5. Auch die Kulturen in der nächst höheren Konzentration [4] waren noch gut gediehen. Je weiter man aber in der Konzentrationsreihe bei wachsendem Ammoniumnitratgehalt hinaufging, um so schneller nahm das Wachstum besonders bei Oscillaria tenuis ab. In den Lösungen 1 und 2 war überhaupt kein Wachstum eingetreten.

Nostoc erwies sich wieder empfindlicher als die Oscillarien. Nur bei Gegenwart von 0,01% Nitrat konnte gutes Wachstum festgestellt werden. In den übrigen Lösungen war meistens gar kein Wachstum eingetreten, oder es hatte nur eine sehr geringe Entwicklung stattgefunden.

Auch Cylindrospermum licheniforme und Calothrix stellaris wiesen nur bei geringster Konzentration von Ammoniumnitrat Wachstum auf. Beide Arten sind sehr empfindlich. In stärkere Konzentrationen gebracht, wuchsen sie gar nicht, sondern begannen sich bald zu verfärben und weiß zu werden.

Aus den Resultaten ist ohne weiteres zu schließen, daß alle Arten sich am besten bei minimalem Ammoniumnitratgehalt entwickeln. Im großen und ganzen war auch dann noch die erhaltene Algenmenge oft gering und stand in gar keinem Verhältnis zu derjenigen, die ich in Ammoniumphosphatlösungen in der gleichen Konzentrationsstufe erhielt. Aus diesem Grunde möchte ich Ammoniumnitrat als eine wenig brauchbare Stickstoffquelle für Blaualgen hinstellen. Diese

Ansicht deckt sich mit der Artaris[1]), der ebenfalls Ammoniumnitrat für eine ungünstige Stickstoffquelle hält. Chlamydomonas-Arten, die in Ammoniumnitratlösungen kultiviert wurden, zeigten nur mäßiges Wachstum. — Auch Pringsheim[2]) hält Ammoniumnitrat nicht für sehr geeignet für Cyanophyceenkulturen. Er meint, daß die Blaualgen das Nitrat-Jon vorziehen, und daß die Nährlösung durch das frei werdende Ammoniak nach einiger Zeit alkalisch reagiere.

Kulturen, denen ich Spuren von Calciumkarbonat in Pulverform hinzugefügt hatte, entwickelten sich in Ammoniumnitratlösung wesentlich besser. Da die Lösung eine kleine Menge Ca ohnehin enthielt, so ist die Zugabe wohl nicht der einzige ausschlaggebende Grund, vielmehr wird man in dem Calciumkarbonat als solchem eine auf die Nährlösung nach dem Neutralitätspunkte hin bestimmende Wirkung annehmen müssen. Ich wiederholte nun den Versuch in dem Sinne, daß ich in einer Versuchsserie a) das Calcium durch Karbonat ersetzte, während ich es in der anderen b) als Sulfat beließ. Die Nährlösungen waren sonst die gleichen wie in dem vorhergehenden Versuche mit Ammoniumnitrat.

Am 3. Juli wurden die Kölbchen mit denselben Arten wie vorhin geimpft, und nach einem Monat, am 5. August, war das Ergebnis deutlich zu erkennen. Die Oscillarien hatten sich in den Lösungen 2 bis 5 in der Versuchsreihe a) mit Calciumkarbonatgehalt besser entwickelt als ohne Karbonat. Der Unterschied bestand vor allem darin, daß bedeutend mehr Algenmaterial gebildet worden war. In der niedrigsten Konzentration jedoch bei 0,01% Ammoniumnitratgehalt war ein Übergewicht der erzeugten Algenmassen kaum wahrzunehmen. Der Grund hierfür ist offenbar darin zu suchen, daß der an und für sich schon geringe Ammoniumnitratgehalt eine allzugroße Basicität nach Abbau des NO_3' Anions nicht aufkommen lassen wird und daher die abschwächende Wirkung des Calciumkarbonats nicht so zur Geltung kommt wie in den stärkeren Konzentrationen. Lösung 1 zeigte auch bei Gegenwart von Calciumkarbonat kein Wachstum. Die Konzentration der Lösung war noch zu hoch, um eine Entwicklung zu gestatten.

Mit dem Nostoc wurde in der Versuchsreihe a) ebenfalls besseres Wachstum erzielt als in b). Manchmal jedoch waren die Unterschiede, wie aus der Tabelle hervorgeht, nicht sehr scharf. Den Grund vermute ich darin, daß diese Art in Ammoniumnitrat nicht gut wächst. Immerhin konnte schon in Lösung 2 Wachstum beobachtet

---

[1]) A. Artari, Zur Physiologie der Chlamydomonaden. Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik. Bd. 52.

[2]) E. G. Pringsheim, Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen. (III. Mitteilung.) Beiträge z. Biologie d. Pflanzen Bd. XII. 1913. S. 75.

Versuch 6.

Angesetzt am 17. Juni 1913. — Ergebnis am 21. Juli 1913.

Bestimmung der optimalen Konzentration von Ammoniumnitratlösungen.

Stammnährlösung: 0,02% K_2HPO_1 + 0,02% $MgSO_1$ + $7H_2O$ + Spur $CaSO_4$ und $Fe_2(PO_1)_2$ in dopp. dest. Wasser.

Konzentration.	Lösung 1. 0,5% NH_4NO_3	Lösung 2. 0,1% NH_4NO_3	Lösung 3. 0,05% NH_4NO_3	Lösung 4. 0,025% NH_4NO_3	Lösung 5. 0,01% NH_4NO_3
Oscillaria brevis aus Petrischale mit Kieselgall. vom 20. 5. 1913.	Die Fäden sehen krank aus.	Beide Kulturen sind nicht gewachsen.	Dünne Algenschicht am Glase der Kölbchen.	Schöne Haut, sieht gut aus.	Dicke Haut. **Beste Kultur.**
Oscillaria tenuis aus Heydenagarröhrchen vom 16. 5. 1913.	Die Fäden sind bleich geworden.	Die Fäden sehen gelblich aus.	Fäden ausgebreitet, minimales Wachstum.	Nicht viel gewachsen, sieht gut aus.	Die Algenmasse ist gering geblieben, schön grün.
Nostoc spec. aus Heydenagarröhrchen vom 16. 5. 1913.	Die Fäden sind farblos geworden.	Fäden noch grün.	In einer Kultur wenig gewachsen, die zweite ist unverändert geblieben.	Hübsche Haut, aber geringe Algenmenge.	Vollständig grüner Randbelag. **Beste Kultur.**
Cylindrospermum licheniforme aus Petrischale vom 20. 5. 1913.	Impfklümpchen ist abgestorben.	Die Fäden sehen gelb aus.	Fäden grün, wenig vermehrt.	Hübsche Haut, nicht groß.	Ausgedehnter Randbelag, gut gewachsen.
Calothrix stellaris aus Petrischale vom 20. 5. 1913.	Imptklümpchen ist nicht gewachsen.	Impfklümpchen ist nicht gewachsen.	In einer Kultur spärliches Wachstum, Kontrollkultur nicht gewachsen.	Bildung eines Häutchens.	Dichte Haut, gut gewachsen aber wenig Algenmasse.

Versuch 7.

Angesetzt am 3. Juli 1913. — Ergebnis am 5. August 1913.

Bestimmung der optimalen Konzentration von Ammoniumnitratlösungen a) mit Calciumkarbonat, b) mit Calciumsulfat.

Konzentration.		Lösung 1. 0,5% NH_4NO_3	Lösung 2. 0,1% NH_4NO_3	Lösung 3. 0,05% NH_4NO_3	Lösung 4. 0,025% NH_4NO_3	Lösung 5. 0,01% NH_4NO_3
Oscillaria brevis aus Petrischale mit Kieselgall. vom 12. 6. 1913.	a)	Nicht gewachsen.	Zarte Haut. a > b.	Schöne dicke Haut. a > b.	Wie in 3, noch vermehrt. a > b. beste Kulturen.	Dicker Belag an der Glaswand.
	b)	Nicht gewachsen.	Die Fäden sehen krank aus.	Nur wenig vermehrt.	Dünne Haut und zarter Randbelag.	Starker Randbelag, kein Unterschied zwischen a und b.
Oscillaria tenuis aus Heydenagarröhrchen vom 6. 6. 1913.	a)	Nicht gewachsen.	Großer grüner Klumpen, etwas gewachsen.	1. Kultur: zarte Haut. 2. Kultur: grüner Klumpen. a besser als b.	Dichte Haut. a > b.	Sehr dichter Randbelag. Beste Kultur. Eine Kultur a > b.
	b)	Fäden bleich.	Fäden gelb.	Impfklümpchen zusammengeballt.	Auch nicht viel mehr gewachsen.	Algenmasse gering, sieht aber nicht schlecht aus.
Nostoc spec., aus Heydenagarröhrchen vom 6. 6. 1913.	a)	Nicht gewachsen.	Impfklümpchen ausgebreitet, in einer Kultur gewachsen.	Nicht viel gewachsen, sieht aber gut aus. 1 Kultur a > b.	Schöne Haut, a > b.	Wie in 4, in einer Kultur noch stärker, beste Kultur. a > b.
	b)	Fäden weiß.	Fäden gelblich, nicht gewachsen.	1. Kultur kränkelt, 2. Kultur: minimales Wachstum.	Zartes Netz.	Dichteres Netz.
Cylindrospermum licheniforme aus Petrischale vom 12. 6. 1913.	a)	Nicht gewachsen.	Noch grün, nicht gewachsen.	Grünes Häutchen um das Impfklümpchen. a > b.	Sehr hübsche Haut, a > b.	Randbelag und Haut, beste Kultur. a > b.
	b)	Impfklümpchen abgestorben.	Abgestorben.	Noch grün, kaum gewachsen.	Zarte Haut, wenig Algenmasse.	Noch dichter wie in 4.
Calothrix stellaris aus Petrischale vom 12. 6. 1913.	a)	Impfklümpchen gelblich.	Grün, nicht gewachsen.	Auf der Oberfläche kleine Algenzentren. a > b.	Noch vermehrt, Bildung einer Haut. a > b.	Sehr schöne Haut, an der Fensterseite recht dick, beste Kultur.
	b)	Abgestorben.	Grün, nicht gewachsen.	Impfklümpchen kaum größer geworden.	Etwas mehr gewachsen als in 3.	Hübsche Haut.

werden, während die entsprechenden Kontrollkulturen ohne Calciumkarbonat leer geblieben waren.

Cylindrospermum licheniforme und Calothrix stellaris ließen dagegen bedeutend bessere Unterschiede erkennen. Hier fielen allein die Calciumkarbonatkulturen 3 bis 5 durch ihre schöne grüne Färbung auf, während die daneben stehenden Kontrollkulturen nur eine mäßige Entwicklung zeigten. Die Kulturen 1 und 2 waren dagegen ohne jegliches Wachstum geblieben.

Eine bessere Vermehrung der Algensubstanz hatte in calciumkarbonathaltigen Lösungen [3 bis 5] bei allen Arten stattgefunden. Man wird daher nicht fehlgehen, wenn man dem Calciumkarbonat eine die Reaktion der Nährlösung günstig beeinflussende Wirkung zuschreibt, vielleicht weil es die Dissoziation des Ammoniumkarbonates herabsetzt.

Am Ende dieses Kapitels wird nun zu erörtern sein, welche von den besprochenen Stickstoffverbindungen sich am brauchbarsten erwiesen hat. Wie wir gesehen haben, ließ jedes Stickstoffsalz bei bestimmtem Gehalt ein Optimum des Wachstums bei den einzelnen Arten erkennen. Daß dasselbe, was die erzeugte Algenmenge betrifft, ein recht verschiedenes ist, hängt von der Art des Kations ab. In Calciumnitratkulturen stellte ich die größte Algenentwicklung fest, die ich weder in Kaliumnitratlösungen, noch in irgend einem anderen dargebotenen Stickstoffsalz überhaupt erhielt.

Von den Nitriten erwies sich das salpetrige Kaliumsalz in schwach basischer Lösung und niedriger Konzentration 0,01% auch brauchbar. Doch reichte die erzeugte Algenmenge nie an diejenige heran, welche ich in Calciumnitratlösungen gewann. Sie dürfte eher den in Kaliumnitratlösungen erhaltenen Algenmengen gleichzustellen sein und ist auch nur mit dieser zu vergleichen.

Was nun die Ammoniumverbindungen anbelangt, so war das Ammoniumnitrat giftiger als das Ammoniumsulfat. Nach den in niedrigen Konzentrationen erhaltenen Algenmengen zu urteilen, war das Wachstum gering. Diese Tatsache steht in gutem Einklange mit den von Boresch[1]) gemachten Beobachtungen. Ihm war es oft nicht möglich, in Ammoniumverbindungen seine Versuchsalge Phormidium corium zum intensiven Ergrünen zu bringen. Der Verfasser meint, daß bei den Ammoniumsalzen die Giftwirkung auf den Kationen beruht, die dann Nähr- und Giftwirkung zugleich erzeugen. — Bei Ammoniumsulfat ist es die nachteilige Wirkung der H-Jonen-Anhäufung, die nach Verbrauch des NH_4, das Wachstum beeinflußt. Bessere Wachstums-

[1]) K. Boresch, Zur Physiologie der Blaualgenfarbstoffe. Lotos LVIII. Prag 1910.

ergebnisse erzielte ich bei Anwendung von Ammoniumsalzen mit sekundärem Ammoniumphosphat. Dieses Salz war von Pringsheim[1]) ebenfalls mit gutem Erfolg bei Algenkulturen benutzt worden, und über die hierbei auftretenden Jonenwirkungen äußert er sich folgendermaßen:

„Eine zu starke Säuerung wird dabei nicht leicht auftreten, weil die Phosphorsäure verhältnismäßig wenig dissoziiert und daher in dem zunächst entstehenden Monophosphat oder vielmehr Gemisch von NH_4-, PO_4-, HPO_4-, H_2PO_4- und H-Jonen mit den undissoziierten Molekülen $NH_4H_2PO_4$ die H-Jonen weniger konzentriert sind als z. B. in den Lösungen, die entstehen, wenn das Sulfat oder Chlorid des Ammoniums seines Kations beraubt wird."

Aus diesen Darlegungen erhellt, wie weit eine nutzbringende Verwendung des Nitrat-, Nitrit- und Ammonstickstoffs möglich ist. An erste Stelle ist entschieden das Calciumnitrat zu setzen; denn bezüglich der günstigen Nährwirkungen ist keine andere Stickstoffquelle ebenbürtig. Erst in weiterem Abstande ist das sekundäre Ammoniumphosphat, das Kaliumnitrat und von den Nitriten das Kaliumsalz zu nennen. Alle diese Verbindungen gestatten gleich gutes Wachstum. In die letzte Gruppe sind die übrigen Ammoniumverbindungen einzureihen, wie das Ammoniumsulfat und das Ammoniumnitrat. Diese Salze haben sich durchweg ungünstig für Blaualgenkulturen erwiesen, wenn auch bei dem letzteren die Anwesenheit von Calciumkarbonat eine geringe Förderung des Wachstums zur Folge hatte.

IV. Die Bedeutung der übrigen Nährsalze. Ist Calcium notwendig?

Molisch[2]) war zu dem überraschenden Resultat gelangt, daß zahlreiche Grünalgen, wie Microthamnion Kützingianum Naeg., Stichococcus bacillaris Naeg., Ulothrix subtilis (?) Kg. und Protococcus sp. das Calcium vollständig entbehren können. Andere dagegen, wie Spirogyra und Vaucheria gedeihen in einer calciumfreien Nährlösung nicht und gehen bald zugrunde. Diese mit Vermeidung aller Fehlerquellen festgestellte Beobachtung von Molisch wurde bald darauf von Benecke[3]) bestätigt und erweitert. Ihm gelang es, Hormidium

[1]) E. G. Pringsheim, Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen. (III. Mitteilung.) Beiträge z. Biologie d. Pflanzen. Bd. XII. 1913. S. 76.

[2]) H. Molisch, Zur Ernährung der Algen. (Süßwasseralgen.) Sitzungsbericht d. kais. Ak. d. Wissensch. zu Wien. Math.-naturw. Kl. Bd. CIV. Abt. I. 1895. S. 794.

[3]) W. Benecke, Über Kulturbedingungen einiger Algen. Bot. Zeitung. 1898. 56. Jg. I. Abt. S. 83.

und Protococcusformen in calciumfreien Nährlösungen zu züchten, ferner führte er den Nachweis für Chlamydomonas longistigma Dill, die ebenfalls das Calcium entbehren kann. Demnach verhalten sich gewisse Grünalgen wie niedere Pilze, die sich bei völligem Ausschlusse von Kalk gleichfalls normal entwickeln. Der Satz, daß die grünen Pflanzen zu ihrer Ernährung des Calciums bedürfen, ist also nicht allgemein gültig. Wie sich aber in dieser Beziehung die Blaualgen verhalten, ist bisher noch ungeklärt. Eine nähere Untersuchung und Prüfung dieser nicht bedeutungslosen Frage schien daher berechtigt.

Wie bei der Prüfung des Stickstoffbedürfnisses im vorhergehenden Abschnitt, so mußte auch hier äußerst sorgfältig zu Werke gegangen werden. Eine exakte Beantwortung der Calciumfrage war nur dann möglich, wenn neben ganz reinen Nährsalzen calciumfreie Gefäße zur Verwendung kamen. Da es kein Ca-freies Glas gibt, so durfte nur mit ausparaffinierten Erlenmeyerkölbchen gearbeitet werden, und sämtliche Gefäße, mit denen die Nährlösung in Berührung kam, waren mit einem Paraffinüberzug zu versehen.

Die calciumfreie Nährlösung hatte folgende Zusammensetzung:

1) 0,01% KNO_3
   0,02% Na_2HPO_4 [1])
   0,02% $MgSO_4 + 7\,H_2O$
   Spur $Fe_2(PO_4)_2$ in dopp. dest. Wasser.
2) Die Lösung 1 mit 0,02% $CaSO_4$ (Aufschlämmung in dopp. dest. Wasser. Es löst sich $>$ 0,05%.)

Lösung 2 diente in unserem Versuche als Kontrollkultur. Die mit der Nährlösung beschickten Kölbchen in den Kontrollkulturen waren ebenfalls mit einem Paraffinmantel ausgekleidet, damit den Blaualgen außer dem bekannten Calciumgehalt keine etwaigen Überschüsse an Calcium zur Verfügung standen, die bei der langen Dauer des Versuches leicht aus dem Glase in Lösung gehen konnten. Auch erschien es schon deshalb angebracht, die Kölbchen für die calciumsulfathaltigen Kulturen auszuparaffinieren, um in beiden Versuchsreihen die gleichen Existenzbedingungen herzustellen.

Als Versuchsalgen dienten Oscillaria brevis, O. tenuis und Nostoc. Das Impfmaterial stammte aus Petrischalen, in denen die Algen speziesrein auf der schon oben erwähnten Kieselsäuregallerte mit bekannter Zusammensetzung [2]) der Nährsalze gezüchtet worden waren. Da dieser Nährboden Calcium enthielt, so war es beim Abimpfen,

---

[1]) Anstatt dieser Verbindung bot ich den Phosphor auch als Ammoniumphosphat dar, um zugleich für einen größeren Stickstoffgehalt in der Nährlösung zu sorgen. Eine merkliche Beeinflussung der Ergebnisse fand aber nicht statt.

[2]) Die Nährlösung bestand aus: 0,1% $Ca(NO_3)_2 + 0{,}02\%\ K_2HPO_4 + 0{,}02\%\ MgSO_4 + 7\,H_2O$ + Spur $Fe_2(PO_4)_2$.

trotzdem die Impfmasse noch in destilliertem Wasser abgespült worden war, nicht ausgeschlossen, daß Calciumspuren den Fäden anhafteten, die in die calciumfreie Nährlösung mit hinübergebracht werden konnten. Es war daher notwendig, um jede Fehlerquelle zu vermeiden, von einer möglichst calciumarmen Kultur auszugehen. Deshalb benutzte ich die Kulturen, in die die Impfmasse von den Petrischalen übertragen war, nur als Zwischenkulturen und impfte von ihnen in eine weitere Serie von ausparaffinierten Kölbchen, die dieselben Nährlösungen enthielten.

Am 15. Oktober 1912 waren die ersten calciumfreien Zwischenkulturen nebst den calciumsulfathaltigen Kontrollkulturen geimpft worden. Nach fünf Tagen wurden die calciumfreien Kulturen zum erstenmal durchgesehen. Die Oscillarien hatten sich an der paraffinierten Glaswand der Kölbchen ausgebreitet, während die Impfmasse der Nostoc spec. untergesunken war und sich zusammengeballt hatte. In den Kontrollkulturen hatten sich die Oscillarien ebenfalls ausgebreitet, Nostoc bildete eine Kugel, von der zahlreiche Fäden strahlig ausgingen.

Am 25. Oktober hatte Oscillaria brevis in calciumfreier Lösung ein zartes Netz gebildet und schien auch etwas zu wachsen. O. tenuis und Nostoc beharrten noch auf ihrem vorigen Standpunkt, sahen aber noch gesund aus. Die calciumsulfathaltigen Kulturen wiesen dagegen einen bedeutenden Fortschritt auf. Schon von weitem ließen die Kölbchen durch ihre grüne Färbung erkennen, daß die Algen reges Wachstum zeigten.

Am 4. November hatte Oscillaria brevis in den calciumfreien Kulturen an der Fensterseite ein kleines Rändchen entwickelt, während O. tenuis nur einen schwachen Überzug von geringer Ausdehnung an der Glaswand hervorgebracht hatte. Nostoc hatte sich kaum vermehrt.

Eine geringe Zunahme der Algensubstanz hatte also bei den Oscillarien in calciumfreier Nährlösung stattgefunden. Daß eine schwache Entwicklung sich bemerkbar gemacht hatte, deutete darauf hin, daß beim Impfen noch genügende Calciumspuren den Fäden anhafteten. Im großen und ganzen war aber das Wachstum viel geringer als in den Calciumkulturen, die inzwischen eine üppige Vermehrung erfahren hatten. Oscillaria brevis bildete eine dicke Haut, ebenso O. tenuis. Nostoc hatte auf der Oberfläche der Kulturflüssigkeit ein ausgedehntes Netz angelegt. Aus der Gegenüberstellung der beiden Versuchsreihen ging deutlich hervor, daß der Calciumgehalt das Wachstum in den Kontrollkulturen sehr gefördert hatte.

Am 21. November war das Wachstum in der calciumfreien Zwischenkultur bei Oscillaria brevis zum Stillstand gekommen. Das Rändchen hatte sich nicht weiter vermehrt, und die Algenfäden begannen gelb zu werden und teilweise zu verbleichen. O. tenuis sah schlecht aus und hatte auch keinen Zuwachs an Algensubstanz erfahren. Nostoc war vollständig farblos geworden. Die Kontrollkulturen dagegen waren weiter gewachsen, und sämtliche Arten wiesen in allen Kölbchen eine ausgezeichnete Vermehrung auf.

Solange die übergeimpften Fäden in den calciumfreien Zwischenkulturen noch gesund waren, und sich anfänglich eine schwache Ent-

wicklung zeigte, wurde aus diesen Kulturen wiederum in eine calciumfreie Nährlösung abgeimpft. Ihr zur Seite stand eine Kontrollkultur mit Calcium, die mit demselben Impfmaterial beschickt wurde.

Beginn des Versuches am 25. Oktober 1912, Ende am 30. November 1912. Die Ergebnisse waren nach zehn Tagen folgende: Die calciumfreien Kulturen hatten gar keine Fortschritte in ihrer Entwicklung gemacht. Die Oscillarien hatten sich ein wenig ausgebreitet, während die Nostoc spec. unverändert geblieben war. In den Kontrollkulturen dagegen hatten die Oscillarien und Nostoc einen zarten Randbelag gebildet, der schön grün und gesund aussah. Nach Verlauf von weiteren zehn Tagen waren die Oscillarien in den calciumfreien Kölbchen zum Teil gelb und farblos geworden. Nostoc war überhaupt nicht verändert. Alle calciumhaltigen Kulturen hingegen hatten sich schön weiter entwickelt.

Am 30. November, nachdem der Versuch über einen Monat im Gange war, waren die Algen in den calciumfreien Kulturen zum größten Teil abgestorben. Viele sahen krank aus, und zu einer Weiterentwicklung war es während der ganzen Versuchszeit nicht gekommen. Anders verhielten sich die Calciumsulfat enthaltenden Kontrollkulturen. In diesen hatten sich in allen Kölbchen dicke Algenpolster auf der Oberfläche der Nährlösung gebildet.

Versuch 8. (Zwischenkultur.)

Die Bedeutung des Calciums für Blaualgen.

Angesetzt am 15. 10. 1912.	Datum	Calciumfreie Kultur. 0,01% KNO_3 0,02% $MgSO_4 + 7\,H_2O$ 0,02% Na_2HPO_4 Spur $Fe_2(PO_4)_2$	Kontrollkultur. Dieselbe Nährlösung, aber mit $CaSO_4$
Oscillaria brevis aus Petrischale vom 6. 9. 1912.	25. 10.	Die Fäden sind auseinandergekrochen, zartes Netz an der Glaswand.	Auf der Oberfläche der Lösung schönes Netz.
	4. 11.	An der Fensterseite zartes Rändchen, Wachstum sehr gering.	Dichtes Netz, bedeutend vermehrt.
	21. 11.	Die Fäden sehen gelb aus.	Sehr dicke Haut.
Oscillaria tenuis aus Petrischale vom 6. 9. 1912.	25. 10.	Fäden an der paraffinierten Glaswand ausgebreitet.	Schönes, grünes Netz.
	4. 11.	Schwacher Überzug an der Glaswand, Wachstum sehr gering.	Sehr schönes Netz, stark vermehrt.
	21. 11.	Die Alge kränkelt.	Sehr gutes Wachstum.
Nostoc spec. aus Petrischale vom 6. 9. 1912.	25. 10.	Impfklümpchen zu Boden gesunken, Fäden strahlig.	Randbelag an der Fensterseite.
	4. 11.	Impfklümpchen kaum vermehrt.	1. Sehr dicker Belag, 2. etwas weniger.
	21. 11.	Die Fäden sind farblos geworden, die Alge ist abgestorben.	Dicker Randbelag und Algenüberzug auf der Oberfläche der Lösung.

Versuch 9.

Die Bedeutung des Calciums für Blaualgen. (Hauptkultur.)

Abgeimpft am 25. 10. von Zwischenkultur	Datum	Calciumfreie Kultur. 0,01% KNO_3 0,02% $MgSO_4 + 7\,H_2O$ 0,02% Na_2HPO_4 Spur $Fe_2(PO_4)_2$	Kontrollkultur. Dieselbe Nährlösung mit $CaSO_4$.
Oscillaria brevis.	4. 11.	Ausbreitung der Fäden, kein Wachstum.	Zarter Randbelag, Wachstum ist bereits eingetreten.
	14. 11.	Die Fäden beginnen gelb zu werden.	Gute Kultur, die Fäden bilden einen halbkreisförmigen Randbelag.
	30. 11.	Fäden farblos, tot.	Sehr üppige Algenkultur.
Oscillaria tenuis.	4. 11.	Ausbreitung der Fäden, aber nicht gewachsen.	Algenmasse an der Fensterseite, noch nicht viel, aber gewachsen.
	14. 11.	Die Fäden sterben ab und sind zum Teil weiß geworden.	Gut gewachsen, besonders stark nach dem Fenster zu.
	30. 11.	Fäden farblos, ganz abgestorben.	Beide Kölbchen zeigen gutes Wachstum.
Nostoc spec.	4. 11.	Impfmasse unverändert geblieben.	Die Fäden haben sich ausgebreitet und vermehrt.
	14. 11.	Gar nicht gewachsen, die Fäden sehen krank aus.	Schönes Algennetz auf der Oberfläche.
	30. 11.	Impfmasse völlig abgestorben.	Noch vermehrt.

Auf Grund dieser Befunde halte ich mich zu der Annahme berechtigt, daß Calcium ein unentbehrliches Element für Oscillarien und Nostoc ist.

Die Verquickung der Calciumfrage mit der Ersetzbarkeit eines Elementes durch ein anderes wie durch Strontium hatte schon Loew[1]) und Molisch[2]) zu folgendem Nachweis bei Grünalgen veranlaßt. Wurde Spirogyren Strontium- anstatt Calciumnitrat oder Strontiumchlorid anstatt Calciumchlorid dargeboten, so zeigte es sich, daß die Algen in Strontiumlösungen länger aushielten als die Kontrollkulturen in calcium- und strontium-freien Nährlösungen. Eine gewisse Zeit lang konnte das Strontium das Calcium ersetzen und ein vorzeitiges Absterben der Alge verhindern. Wie sich in dieser Beziehung Cyanophyceen verhalten, bedurfte noch der Aufklärung.

Am 7. November 1913 impfte ich Oscillaria tenuis, Nostoc spec. und Calothrix stellaris in eine calciumfreie, strontiumhaltige Nährlösung, die folgende Zusammensetzung hatte:

---

[1]) O. Loew, Über die physiologischen Funktionen der Calcium- und Magnesiumsalze im Pflanzenorganismus. Flora 1892. 75. Jg. S. 368.

[2]) H. Molisch, Die Ernährung der Algen. (Süßwasseralgen.) I. Abh. Sitzb. d. kais. Akad. d. W. in Wien. Math.-naturw. Kl. Bd. CIV. Abt. I. 1895. S. 783.

I. 1) 0,1% $Sr(NO_3)_2$ + 0,01% KNO_3 + 0,02% K_2HPO_4 + 0,02% $MgSO_4$ +
2) 0,05% " " " " 7 H_2O + Sp.
3) 0,01% " " " " $Fe_2(PO_4)_2$ in
4) 0,005% " " " " dopp. dest.
5) 0,001% " " " " Wasser.
6) 0,0005% " " " "
7) 0,0001% " " " "
8) — " " " "

Das Strontiumnitrat wurde zugleich ins Minimum gebracht. Da mit demselben auch der Stickstoff abgestuft wurde, so mußte das fehlende NO_3 ergänzt werden, wozu KNO_3 gewählt wurde.

Die Nährlösung der Kontrollkultur bestand aus:

II. 0,1% $Ca(NO_3)_2$ + 0,01% KNO_3 + 0,02% K_2HPO_4 + 0,02% $MgSO_4$ + 7 H_2O + Spur $Fe_2(PO_4)_2$ in dopp. dest. H_2O.

Das Calciumnitrat wurde wie das Strontiumnitrat bis zum Minimum abgestuft und in einer Kultur fortgelassen. Als Kulturgefäße dienten in beiden Fällen ausparaffinierte Erlenmeyerkölbchen. Vom Sterilisieren der Nährlösung, die für die paraffinierten Kölbchen bestimmt war, mußte ich absehen. Die Bereitung der Nährlösungen wurde im Impfkasten vorgenommen, aber trotz dieser Vorsichtsmaßregel wucherten in einer großen Anzahl von Kölbchen nach 2 bis 3 Wochen Pilze, so daß der Versuch sehr gestört wurde. Auch in den Kulturen, die rein geblieben waren, war das Wachstum gering, und es konnten keine Resultate abgelesen werden. Da es ohne Sterilisieren nicht gut möglich war, pilzfreie Kulturen zu erhalten, obwohl bakterienfreies Impfmaterial verwendet wurde, so wiederholte ich den Versuch am 27. Februar 1914 in Jenenser Kölbchen. Das Wachstum war auch jetzt noch in einigen Kulturen nicht sehr kräftig, vielleicht waren die ungünstigen Lichtverhältnisse daran schuld.

Die Ergebnisse sind dahin zusammenzufassen, daß in den strontiumhaltigen Lösungen nach 1½ monatlicher Versuchsdauer die Blaualgen in den Kulturen 3 bis 5 sich frisch erhalten hatten. Das Wachstum war aber minimal, während in den entsprechenden Calciumkulturen besseres Wachstum erzielt worden war. In den schwächeren Strontiumlösungen 6 und 7 und in der strontiumfreien Lösung waren die Algen zugrunde gegangen. Das gleiche Verhalten zeigten auch die entsprechenden Calciumkulturen. Der in diesen Kulturen herrschende Calciummangel konnte nicht durch die geringen Strontiummengen von 0,0005% und 0,0001% ersetzt werden. Erst in den Lösungen 3 bis 5 hatten die Blaualgen in dem Strontium einen gewissen Ersatz gefunden. Nach zwei Monaten waren die Kulturen aber zugrunde gegangen, während sich in den Ca-haltigen Kölbchen eine bedeutende Algenmenge gebildet hatte. Demnach scheint das

Strontium das Calcium für eine gewisse Zeit zu ersetzen und den Tod der Blaualgen hinauszuschieben. Von einer völligen Vertretbarkeit kann auch hier wie bei Grünalgen nicht die Rede sein.

Zugleich ist durch diese Versuche wahrscheinlich gemacht, daß das Ca nicht durch irgend welche physikalisch-chemischen Einwirkungen das Wachstum verbessert; denn darin hätte ihm das Sr aller Voraussicht nach gleichstehen müssen.

Läßt sich Kalium durch Natrium ersetzen?

Die Frage von der möglichen Ersetzbarkeit des Kaliums durch ein anderes chemisch sehr nahe verwandtes Element, wie z. B. durch Natrium, ist in der Ernährungsphysiologie der Algen wiederholt aufgetaucht. Erst durch Molisch[1]) ist im Jahre 1895 auf diesem Gebiet Klarheit geschaffen worden. Seine Experimente beweisen auf das deutlichste, daß Grünalgen in kaliumfreien Nährlösungen nicht wachsen und bald zugrunde gehen, daß sie also zu ihrer Ernährung wie die höheren Pflanzen das Kalium nicht entbehren können. Auch gelang es ihm nicht, das Kalium durch Rubidium, Cäsium, Lithium und Natrium zu ersetzen.

Eine durchgehende Bestätigung erfuhren diese Befunde durch Benecke[2]). Er stellte in Übereinstimmung mit Molisch fest, daß nachweisbare Mengen von Kalium für ein gedeihliches Wachstum notwendig sind, und daß es weder durch das schädlich wirkende Cäsium noch durch Rubidium vertreten werden könne. Seine Natriumkulturen wuchsen überhaupt nicht oder doch nur äußerst schwach.

Auch Klebs[3]) stellte das Kalium als notwendiges Nährelement hin. Der einzige Zweifel an der allgemeinen Gültigkeit der Unentbehrlichkeit des Kaliums knüpft sich an Versuche von Benecke[2]) mit Blaualgen. Ihm war aufgefallen, daß in natriumhaltigen, kaliumfreien Nährlösungen verschiedener Conjugaten die gewöhnlichen Eindringlinge Hormidien, Protococcoideen etc. ausblieben, und sich dafür Cyanophyceen ansiedelten. Daraufhin stellte er einige Versuche mit Oscillaria tenuis Ag. (?) an mit dem Ergebnis, daß sich in den natrium- oder kaliumhaltigen Lösungen gleich gut entwickelte Überzüge bildeten. Er meint jedoch, daß seine Erfahrungen noch nicht umfangreich genug seien, um daraus bestimmte Schlüsse ziehen zu können, und daß er

---

[1]) H. Molisch, Die Ernährung der Algen. (Süßwasseralgen.) I. Abh. Sitzb. d. kais. Ak. d. W. in Wien. Math.-naturw. Kl. Bd. CIV. Abt. I. Okt. 1895. S. 783. Die Ernährung der Algen. Okt. 1896. Ebenda, Bd. CV. Abt. I. S. 633.

[2]) W. Benecke, Über Kulturbedingungen einiger Algen. Bot. Zeitg. 1898. 56. Jg. I. Abt. S. 83.

[3]) G. Klebs, Die Bedingungen der Fortpflanzung bei einigen Algen und Pilzen. Jena 1896. Verl. v. G. Fischer.

eine ausführliche Arbeit dieser vorläufigen Mitteilung folgen lassen wollte, die aber meines Wissens bis jetzt noch nicht erschienen ist.

Im übrigen kann in betreff der Bedeutung des Natriums für Algen nur auf die nicht eindeutige Beobachtung von Loew und Bokorny[1]), daß Spirogyra in Natron- besser gedeiht als in Kalisalpeter, hingewiesen werden, sowie auf die Versuche Richters[2]) an Meeresdiatomeen, wonach das NaCl hier nicht nur als osmotischer, sondern als Ernährungsfaktor in Betracht kommt, da Natrium unentbehrlich ist.

Ließen sich die fragmentarischen Ergebnisse Beneckes bestätigen, so stünden die Cyanophyceen in der Pflanzenwelt trotzdem als Ausnahmen da, weil die Diatomeen Kalium neben Natrium brauchen. Die Notwendigkeit einer Nachuntersuchung liegt also auf der Hand.

Zur Prüfung des Kaliumbedürfnisses ging ich von einer für meine Cyanophyceenarten gut geeigneten Nährlösung aus. Sie hatte folgende Zusammensetzung:

0,1% $Ca(NO_3)_2$
0,02% K_2HPO_4
0,02% $MgSO_4 + 7\ H_2O$
Spur $Fe_2(PO_4)_2$

Die kaliumfreie Nährlösung enthielt an Stelle des sekundären Kaliumphosphats Natriumphosphat in demselben Prozentgehalt. Mit diesen Nährlösungen, die aus reinsten Salzen von Kahlbaum hergestellt waren, wurden ausgedampfte Erlenmeyerkölbchen aus Jenenser Glas[3]) beschickt. In jedes Kulturgefäß kamen 50 ccm Flüssigkeit. Als Verschluß dienten anstatt eines Wattepfropfens Glaskäppchen, um das Hineinfallen von Fasern zu vermeiden. Nach dem Sterilisieren im Dampftopf wurden je zwei Kölbchen mit einer und derselben Art geimpft und an ein Nordfenster gestellt. Als Versuchsmaterial diente mir Oscillaria brevis, O. tenuis, eine Nostoc-Spezies und eine Chroococcus-Spezies. Sämtliche Arten entstammten Petrischalen mit Kieselsäuregallerte, in die eine Nährlösung von der folgenden Zusammensetzung hineindiffundiert war. 100 ccm dopp. dest. Wasser enthielten 0,1% $Ca(NO_3)_2 + 0{,}02\%\ K_2HPO_4 + 0{,}02\%\ MgSO_4 + 7\ H_2O$ + Spur $Fe_2(PO_4)_2$. Die Arten waren speziesrein, aber nicht bakterienfrei. Abgeimpft wurden nur kleine Mengen von der Algensubstanz, um ein Übertragen

[1]) Loew und Th. Bokorny, Chemisch-physiologische Studien über Algen. Journ. f. prakt. Chemie, neue Folge. Bd. 36. 1887. S. 272.

[2]) O. Richter, Die Ernährung der Algen. Leipzig 1911. S. 11.

[3]) Das Jenenser Geräteglas ist gänzlich kaliumfrei, wohl aber können Mg und Zn aus ihm herausgelöst werden. Herbst fand nach dopp. Destillation aus Jenenser Glas in 3 L. Wasser 0,00015 g Mg und 0,0004 Zn. (Nach einer Mitteilung Küsters: Kultur der Mikroorganismen. Leipzig u. Berlin 1907.)

von anhaftenden Kaliumspuren in die kaliumfreie Nährlösung möglichst zu vermeiden. Deshalb verfehlte ich auch nicht, vor dem Impfen die Algenfäden in doppelt destilliertem Wasser abzuspülen.

Beginn des Versuches am 24. Juli 1912, Ende am 8. September 1912.

Am 1. August hatten die Oscillarien in den Kaliumkulturen bereits ihre Fäden ausgebreitet. Auch das Nostoc war auseinander gekrochen und begann sich an der Glaswand anzuheften, während sich die einzellige Chroococcusart noch nicht verändert hatte. Die zuletzt genannte Alge gehört zu den sehr langsam wachsenden Arten, und es ist darauf bei der Wachstumskontrolle Rücksicht zu nehmen.

Die kaliumfreien, natriumhaltigen Kulturen zeigten bis jetzt während der kurzen Versuchsdauer noch kein von den kaliumhaltigen Kontrollkulturen abweichendes Verhalten.

Am 7. August sahen die Kaliumkulturen schön grün aus. Oscillaria brevis und O. tenuis hatten auf der Oberfläche der Kulturflüssigkeit ein dichtes Netz gebildet. Nostoc hatte einen dicken Randbelag an der Fensterseite entwickelt. Auch der einzellige Chroococcus ließ eine Vermehrung der Algensubstanz erkennen. Im Gegensatz zu den eben besprochenen kaliumhaltigen Kontrollkulturen zeigten die Versuchsalgen in der natriumhaltigen Nährlösung ein deutlich abweichendes Verhalten. Rein äußerlich betrachtet fiel diese Versuchsreihe schon dadurch auf, daß die Kölbchen leer geblieben waren. Ein gedeihliches Wachstum der Algen hatte hier nicht stattgefunden. Die Blaualgen sahen zwar noch grün aus, hatten sich aber nicht merklich vermehrt. Die Oscillarien und Nostoc hatten zwar ein sehr zartes Netz auf der Oberfläche der Lösung gebildet, dürften dabei aber kaum an Masse zugenommen haben. Die Chroococcus spec. war ebenfalls grün geblieben, sie war aber nicht weiter gewachsen.

Nach zwei weiteren Wochen, am 21. August, also nach einer einmonatlichen Versuchsdauer, wurden die Kulturen wieder einer eingehenden Untersuchung unterworfen. Hierbei bestätigte es sich, daß nur in den kaliumhaltigen Lösungen die Blaualgen eine starke Vermehrung erfahren hatten. Die Oscillarien bildeten dicke Wülste und Überzüge auf der Oberfläche der Kulturflüssigkeit. Auch die Wände und den Boden der Gefäße hatten sie mit Fäden dicht überzogen. Das gleiche gilt ebenfalls für die Nostoc spec., während die einzellige Cyanophycee auf dem Boden an vielen Stellen neue Algenkolonien angelegt hatte. Im Gegensatz standen hierzu die kaliumfreien Kulturen. Merkliche Vermehrung war bei allen Arten auch weiterhin nicht festzustellen, vielmehr erweckten die kaliumfreien Kulturen den Anschein, als ob jegliches Wachstum zum Stillstand gekommen sei. Dagegen machte sich eine andere Erscheinung bemerkbar. Die Oscillarien begannen allmählich eine ihrem typischen Aussehen ganz entgegengesetzte Färbung anzunehmen. Oscillaria brevis, die im natürlichen Zustande eine dunkle, braungrüne Farbe besitzt, bekam einen gelblichen Farbenton. Manchmal ging die Verfärbung soweit, daß die Algenfäden farblos wurden, dann trat aber auch der Tod ein. O. tenuis war völlig farblos geworden und nicht mehr lebensfähig. Nur eine Nostoc-Kultur hatte am Boden des Gefäßes zwei grüne Stellen aufzuweisen. Eine schwache Vermehrung hatte hier stattgefunden, während die andere Kultur gelbliche, krankhafte Fäden zeigte. Chroococcus war vollkommen bleich geworden und abgestorben.

Daß eine geringe Vermehrung in der eben erwähnten Nostoc-Kultur

trotzdem stattgefunden hatte, ist wohl darauf zurückzuführen, daß beim Überimpfen der Algensubstanz noch geringe Mengen von Kaliumverbindungen anhafteten, die ein schwaches Wachstum ermöglichten.

Eine Vermehrung der Algen war bei sämtlichen Arten also nur in der kaliumhaltigen Nährlösung erzielt worden. Um jedoch ganz sicher zu gehen, wurde am 7. August, zu einem Zeitpunkt, wo in der kaliumfreien Versuchsreihe, die ich als Zwischenkultur bezeichnen will,

Versuch 10.

1. Vorversuch. (Zwischenkultur.)

Beginn 24. Juli 1912 Ende 8. Sept. 1912.	Datum	Kaliumhaltige Kontrollkultur. 0,1% $Ca(NO_3)_2$ 0,02% K_2HPO_4 0,02% $MgSO_4 + 7\,H_2O$ Spur $Fe_2(PO_4)_2$	Natriumhaltige Nährlösung. 0,1% $Ca(NO_3)_2$ 0,02% Na_2HPO_4 0,02% $MgSO_4 + 7\,H_2O$ Spur $Fe_2(PO_4)_2$
Oscillaria brevis aus Petrischale vom 3. Juli 1912.	1. 8.	Die Algenfäden haben sich ausgebreitet, teilweise am Glase haftend.	Die Fäden haben sich ausgebreitet.
	7. 8.	Auf der Oberfläche dichtes Netz, schön grün aussehend.	Einige Fäden sind gebildet worden, im ganzen aber recht wenig.
	21. 8.	Nicht weiter gewachsen, Algenüberzug bedeutend dichter.	Die Fäden sind gelb geworden, kein Wachstum.
	8. 9	Dicke Haut.	Die Fäden sind abgestorben.
Oscillaria tenuis aus Petrischale vom 3. Juli 1912.	1. 8	Ausbreitung der Fäden, auf der Flüssigkeit beginnt sich ein Netz zu bilden.	Ausbreitung der Fäden.
	7. 8.	Gut gewachsen, bald die ganze Oberfläche einnehmend.	Nur wenig vermehrt, die Fäden beginnen an den Rändern farblos zu werden.
	21. 8.	Sehr dicke, blaugrüne Algenmenge.	Viele Fäden sind farblos geworden, die Mitte der Impfmasse ist noch grün.
	8. 9.	Dicke Haut.	Die ganze Algenmasse ist farblos geworden, tot.
Nostoc spec. aus Petrischale vom 3. Juli 1912.	1. 8.	Fäden nach der Fensterseite hin ausgebreitet, am Glase haftend.	Fäden nach der Fensterseite hin etwas strahlend.
	7. 8.	Dichter Randbelag, schön grün.	In einer Kultur am Boden einige grüne Fäden, in der andern Kultur schwaches Netz.
	21. 8.	Dicker Überzug.	Am Boden einige grüne Stellen, etwas vermehrt, die andere Kultur wird gelb.
	8. 9.	Das gleiche Verhalten wie am 21. 8.	Die 1. Kultur nicht weiter gewachsen, die 2. tot.
Chroococcus spec. aus Erlenmeyerkölbchen vom 17. Juni 1912.	1. 8	Impfklümpchen noch grün, aber nicht verändert.	Impfklümpchen grün, keine Veränderung.
	7. 8	Die Algenmenge hat sich etwas vermehrt.	Kein Wachstum.
	21. 8.	Es beginnen sich an vielen Stellen neue Algenkolonien zu bilden.	Impfklümpchen immer noch unverändert.
	8. 9.	Der Boden ist vollständig grün geworden.	Impfklümpchen gelb, kein Wachstum.

Versuch 11.

Beginn 7. Aug. 1912. Ende 8. Sept. 1912.	Datum	Kaliumhaltige Nährlösung. Abgeimpft am 7. 8. aus der kaliumfreien Kultur.	Natriumhaltige Nährlösung. Abgeimpft am 7. 8. aus der kaliumfreien Kultur.
Oscillaria brevis.	14. 8.	Fäden ausgebreitet.	Fäden am Boden liegend, noch nicht an der Glaswand haftend.
	21. 8.	An der Glaswand dichtes Netz, wenn auch noch nicht sehr vermehrt.	Fäden spärlich am Boden an einigen Stellen haftend, sonst aber nicht vermehrt.
	8. 9.	Dickeres Netz, Wachstum hat zugenommen.	Fäden sehen gelb aus, kein Wachstum.
Oscillaria tenuis.	14. 8.	Zartes Netz, schon vermehrt.	Auf der Nährflüssigkeit sehr zartes kleines Netz.
	21. 8.	Die Haut ist dichter geworden.	Die Fäden sind farblos geworden und abgestorben.
	8. 9.	Vermehrung der Algenmenge, sehr schön grün.	—
Nostoc spec.	14. 8.	Zarter Randbelag an der Fensterseite.	1. Impfklümpchen zusammengeballt, 2. Fäden nur wenig ausgebreitet.
	21. 8.	Die Algenmenge hat sich bedeutend vermehrt.	Beide Kulturen sehen krank aus.
	8. 9.	Dicker Randbelag.	Nicht gewachsen, gelb.
Chroococcus spec.	14. 8.	Impfklümpchen noch nicht größer geworden.	Impfklümpchen grün, noch nicht verändert.
	21. 8.	Impfklümpchen in 1 größer geworden, in 2 noch nicht gewachsen.	Gar nicht gewachsen, noch grün.
	8. 9.	Die Algenmenge hat in beiden Kulturen zugenommen.	Nicht gewachsen, gelb.

das Algenmaterial noch gesund und wachstumsfähig war, noch einmal in eine kaliumfreie, natriumhaltige Nährlösung mit der entsprechenden Kontrollkultur abgeimpft, die unter den gleichen Bedingungen, wie oben beschrieben wurde, hergestellt worden war.

Das Resultat war, um es gleich voraus zu sagen, nach einem Monat noch schlagender als im ersten Versuche. Nur in den kaliumhaltigen Lösungen hatten sich üppige Kulturen entwickelt, die kaliumfreien zeigten keine Spur von Wachstum. Aus diesen Versuchen geht mit Bestimmtheit hervor, daß das Kalium für die Ernährung der Blaualgen durchaus notwendig ist. Nach meinen Versuchen steht es zweifellos fest, daß Oscillaria brevis, O. tenuis, Nostoc und Chroococcus spec. das Kalium nicht entbehren können, und daß es durch Natrium nicht ersetzt werden kann. Die untersuchten Arten verhalten sich wie Grünalgen, deren reichliches Kaliumbedürfnis Molisch, Klebs und Benecke festgestellt haben. Demnach müssen wohl Beneckes Blaualgenkulturen nicht absolut kaliumfrei gewesen sein.

Ob das Ergebnis auf alle Cyanophyceen auszudehnen ist, bleibt dahingestellt. Aber wenn man sich auch in physiologischen Fragen

und bei dem ungeheuren Artenreichtum, wie ihn die Blaualgen umfassen, vor Verallgemeinerungen hüten muß, so ist doch mit großer Wahrscheinlichkeit anzunehmen, daß das Kalium nicht bloß von den von mir geprüften Arten, sondern ebenso von den anderen Arten der Cyanophyceen nicht entbehrt werden kann. Denn gerade in derartigen Dingen verhalten sich die großen Gruppen verwandter Organismen im allgemeinen gleich.

Zum Schluß möge noch ein Versuch Erwähnung finden, der die Notwendigkeit des Kaliums bei der Ernährung der Blaualgen von neuem beweist. Sobald die Algen in den natriumhaltigen Nährlösungen anfingen zu kränkeln, wurden 20 ccm einer 0,02% Kaliumphosphatlösung den Kulturen vorsichtig zugegeben. Nach einigen Tagen bemerkte ich, wie sich die kränklichen Fäden, wenn das Absterben noch nicht zu weit fortgeschritten war, alsbald erholten und allmählich ihre grüne Farbe wieder bekamen. Das unterbrochene Wachstum setzte wieder ein und nach drei Wochen waren die Algen so üppig gewachsen, daß sie bereits nicht mehr von den kaliumhaltigen Kontrollkulturen in betreff der erzeugten Algenmenge unterschieden werden konnten. Derselbe Versuch konnte mit dem gleichen Erfolg wiederholt werden, wenn der natriumhaltigen Nährlösung das Kalium in Form von 20 ccm einer 0,01% Kaliumnitratlösung hinzugefügt wurde, während Kaliumnitrit zuweilen schädigende Wirkungen hervorbrachte.

An dieser Stelle will ich noch einer Beobachtung gedenken, die ich gelegentlich machte. Einige kaliumfreie Kulturen mit der Nostoc spec. sollten, da der Versuch beendet war, weggestellt werden. Zufällig blieben sie am Fenster ohne Glaskäppchen geöffnet stehen. Als ich nach ungefähr drei Wochen auf diese Kulturen, in denen anfänglich keine Spur von Wachstum zu erblicken war, aufmerksam wurde, konnte ich feststellen, daß das Nostoc in allen Gefäßen nachträglich am Boden zu wachsen begonnen hatte. Diesen Fall glaube ich dahin erklären zu sollen, daß in den Staubpartikelchen, die in die offenen Kölbchen gelangten, genügende Spuren von Kalium sich vorfanden, die eine Entwicklung gestatteten.

Die optimale Konzentration des Kaliums.

Die Notwendigkeit des Kaliums war durch meine Versuche für Blaualgen erwiesen. Es wird nun festzustellen sein, wie bei wechselndem Konzentrationsgehalt dieses unentbehrlichen Elementes das Wachstum der Cyanophyceen beeinflußt wird. Wenn wir die Verbindung KNO_3 haben, so soll dieselbe von einem gewissen Punkte, wo gerade Wachstum stattfindet, bis zum Minimum in regelmäßigen Zwischenräumen abgestuft werden. In dem Maße nun, wie das Kation $K^{\cdot}$ bei abnehmendem Konzentrationsgehalt eine Verringerung erleidet, ist dies

auch bei dem stickstoffführenden Anion NO_3' der Fall. Aus diesem Grunde mußte dafür gesorgt werden, daß auch in den schwächsten KNO_3-Konzentrationen noch genügende Stickstoffmengen vorhanden waren. Es war daher notwendig, in den Nährlösungen außer KNO_3 noch eine andere N-Quelle zur Verfügung zu haben, wozu Calciumnitrat gewählt wurde. Auf diese Weise war es möglich, in allen Lösungen, wenn der Kaliumnitratgehalt immer kleiner und kleiner wurde, den für die Ernährung der Algen nötigen Überschuß an Stickstoff zu erhalten.

Die Zusammensetzung der Nährlösungen war folgende:

1) 0,025% KNO_3 + 0,1% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% Na_2HPO_4 + 0,02% $MgSO_4$ +
2) 0,01% " " " " 7 H_2O + Sp.
3) 0,005% " " " " $Fe_2(PO_4)_2$ in
4) 0,001% " " " " dopp. dest.
5) 0,0005% " " " " Wasser.
6) 0,0001% " " " "
7) — " " "

Zur Verwendung gelangten wie bei den kaliumfreien Versuchen Erlenmeyerkölbchen aus Jenenser Geräteglas. Oscillaria brevis, Nostoc spec. und Calothrix stellaris wurden am 11. August 1913 in die Nährlösungen geimpft. Nach fünf Wochen, am 17. September 1913, konnten bereits die Ergebnisse festgestellt werden.

Oscillaria brevis: In Lösung 1 hatte sich eine dünne Haut entwickelt, in 2 war sie bedeutend dichter und stärker geworden, in 3 war in beiden Kulturen eine sehr dicke Haut angelegt worden, in 4 war sie auch noch gut gediehen, zeigte aber in einer Kultur schon weniger Algenmenge. Eine deutliche Abnahme der Algensubstanz fand in Lösung 5 statt, in 6 war sehr wenig gewachsen, und in 7 war bei völligem Ausschluß des Kaliums jegliches Wachstum unterblieben.

Nach dem Augenschein zu urteilen, waren die Wachstumsmengen besonders reichlich in den Lösungen 2 bis 4. Das beste Wachstum erzielte ich mit Oscillaria brevis in Lösung 3 bei einem Gehalt von 0,005% KNO_3.

Nostoc spec.: Lösung 1. Fäden gelblich, wenig gewachsen; 2. zarte Haut, noch nicht viel Algenmasse; 3. bedeutend vermehrt; 4. sehr üppiger Randbelag, sieht am besten aus; 5. auch noch gut, aber etwas weniger Algenmasse; 6. kaum gewachsen; 7. kein Wachstum.

Für Nostoc spec. liegt das optimale Wachstum in Lösung 4 bei einem Gehalt von 0,001% KNO_3.

Calothrix stellaris: Lösung 1. Impfklümpchen grün, nicht viel gewachsen; 2. zarte Haut, deutlich vermehrt; 3. sehr schöne Haut, am besten gewachsen; 4. weniger dicht; 5. noch weniger Algenmasse; 6. Impfklümpchen gelblich, kaum vermehrt; 7. kein Wachstum.

Das optimale Wachstum stellte sich bei Calothrix stellaris in Lösung 3 bei einer Konzentration von 0,005% KNO_3 ein.

Aus diesen Versuchen, die nur den Kaliumgehalt berücksichtigen, geht hervor, daß die Blaualgen mit ziemlich geringen Mengen dieses unentbehrlichen Elementes auskommen können. Wird jedoch der Kaliumgehalt zu minimal oder bei einer Versuchsreihe [7] ganz weggelassen, so tritt, wie wir schon bei den kaliumfreien Versuchen gesehen haben, infolge Nahrungsmangels der Tod ein.

Die optimale Konzentration des Phosphors.

In entsprechender Weise wie beim Kalium wurde nun beim Phosphor verfahren. Als phosphorführende Verbindung wurde Dikaliumphosphat gewählt, das zum Minimum abgestuft wurde. Das hierbei ebenfalls ins Minimum gebrachte Kalium wurde durch KNO_3 ergänzt. Die Nährlösungen hatten demnach folgende Zusammensetzungen:

1) 0,05% K_2HPO_4 + 0,1% $Ca(NO_3)_2$ + 0,01% KNO_3 + 0,02% $MgSO_4$ + 7 H_2O + Spur Fe.
2) 0,01% = = = =
3) 0,005% = = = =
4) 0,001% = = = =
5) 0,0005% = = = =
6) 0,0001% = = = =
7) — = = =

Am 12. August 1913 wurden die Nährlösungen geimpft. Zum Versuche wurden wieder Oscillaria brevis, Nostoc spec. und Calothrix stellaris herangezogen. Das Ergebnis war am 17. September folgendes:

Oscillaria brevis hatte in Lösung 1 nur einen Rand an der Glaswand des Gefäßes entwickelt, während in den Lösungen 2 und 3 sich sehr starke Algenhäute gebildet hatten. In Lösung 4 nahm die Algenmenge schon merklich ab, desgleichen in Kultur 5. In Kultur 6 mit niedrigstem Phosphatgehalte waren sehr spärliche Algenmengen gewachsen, während in den Kulturen, wo der Phosphor ganz weggelassen wurde, überhaupt kein Wachstum zu verzeichnen war.

In den Konzentrationen 0,01% und 0,005% K_2HPO_4 war demnach Oscillaria brevis am besten und üppigsten gewachsen.

Nostoc spec. zeigte in Lösung 1 schwaches Wachstum. Auf der Oberfläche der Nährlösung waren nur wenige Fäden zu bemerken. In 2 war eine reichlichere Vermehrung wohl vorhanden, aber zu einer zusammenschließenden Haut war es noch nicht gekommen. Lösung 3 zeigte ungefähr das gleiche Verhalten wie 2. In Kultur 4 waren bedeutende Algenmengen gebildet worden. Auch durch die schöne grüne Farbe, die diese Kulturen erreichten, ließen sie den Höhepunkt der Entwicklung in der Versuchsreihe deutlich erkennen; denn in Lösung 5 erfolgte bereits eine Abnahme der Algensubstanz. 6 war sehr zurückgeblieben, und in der phosphorfreien Lösung 7 war gar keine Entwicklung vor sich gegangen. Die Fäden waren vollkommen farblos geworden und abgestorben.

Calothrix stellaris: Lösung 1. Auf der Oberfläche der Lösung hatten sich einige grüne Stellen gebildet; 2. das gleiche Verhalten wie in 1;

3. bedeutend vermehrt, die Algencentren schließen sich zu einer Haut zusammen; 4. sehr grüne, dicke Haut; 5. schöne Haut, auch noch gut, aber schon etwas weniger Algenmenge; 6. sehr dünne Haut; 7. nicht gewachsen.

Für Nostoc spec. und Calothrix stellaris erhielt ich das Optimum der Entwicklung bei der Konzentration 0,001% K_2HPO_4. Die Quantität der erhaltenen Algenmengen wuchs stetig von 0,05% bis 0,001%, um dann allmählich wieder abzunehmen und schließlich bei der Abwesenheit von Phosphor gleich null zu sein.

Demnach hat also jede der geprüften Blaualgenarten ihr spezifisches Optimum für Kalium und Phosphor, wahrscheinlich auch für die übrigen notwendigen Elemente, wie das auch schon für die Stickstoffverbindungen gezeigt worden ist.

V. Die optimale Reaktion der Nährlösung.

Schon Molisch[1]) war zu dem Resultat gekommen, daß schwache Alkalität der Nährlösung von größtem Vorteile für Algenkulturen ist. Er brachte Spirogyra-, Vaucheria-, Cladophora-, Oedogonium- und Oscillaria-Arten in folgende Nährlösung:

1000 g H_2O
0,2 g KNO_3
0,2 g KH_2HPO_4
0,2 g $MgSO_4$
0,2 g $CaSO_4$
Spur Eisenvitriol.

Nach 1 bis 3 Tagen begannen die Algen zu kränkeln oder abzusterben. Der Grund hierfür war in dem Monokaliumphosphat zu suchen, das schwach sauer reagiert. Nachdem dasselbe durch das alkalisch reagierende Dikaliumphosphat ersetzt worden war, blieben die Algen gesund. Dieser Befund stimmt mit der von Molisch gemachten Beobachtung überein, daß die meisten natürlichen Wässer, wie sie in Bächen, Teichen und Seen vorliegen, schwache Alkalität aufweisen. Rotes Lakmuspapier, welches er in solches Wasser warf, bläute sich schon nach 15 Minuten oder erst in einer Stunde. In hartem Wasser ging die Blaufärbung selbstverständlich schneller vor sich als in weichem. Die Ursache der Basicität des Wassers ist dem kohlensauren Kalk zuzuschreiben, welcher das Wasser alkalisch macht.

Vor Molisch waren es O. Loew[2]) und Migula[3]) gewesen, die

---

[1]) H. Molisch, Die Ernährung der Algen. (Süßwasseralgen.) II. Abhandlung. Sitzb. d. kais. Akad. d. W. in Wien. Math.-naturw. Kl. Bd. CV. Abt. I. S. 634.

[2]) O. Loew, Sind Arsenverbindungen Gift für pflanzliches Protoplasma? Pflüg. Arch. 1883. Bd. 32.

[3]) W. Migula, Über den Einfluß stark verdünnter Säurelösungen auf Algenzellen. Inaug.-Diss. Breslau 1888.

die Empfindlichkeit einer großen Anzahl von Grünalgen gegen Säuren festgestellt hatten, und auch Artari[1]) kam zu dem Resultat, daß Chlorella communis n. sp. in Dikaliumphosphat- besser gedieh als in Monokaliumphosphatlösungen.

Ebenso betonte O. Richter[2]) neben anderen Autoren, daß schwach akalische Reaktion des Nährsubstrates nicht nur für Grünalgen, sondern auch für Diatomeen von größter Wichtigkeit ist.

Bei Algenkulturen ist besonders darauf zu achten, die Bedingungen der Kultur möglichst den natürlichen Verhältnissen anzupassen, und es ist zweckmäßig, in den Nährlösungen für eine schwache Alkalität zu sorgen, wie dieselbe etwa mit dem sekundären Kaliumphosphat erreicht wird, das bei allen meinen Versuchen mit bestem Erfolg benutzt wurde.

Wie aber Pringsheim[3]) betont, wäre eine genauere Feststellung der optimalen Reaktion erwünscht, wie sie durch Gemische der verschiedenen Orthophosphate erzielbar ist. In folgendem wird es also meine Aufgabe sein, nahe am Neutralitätspunkte liegende H- und OH-Jonenkonzentrationen darzustellen und zu beobachten, in welchen Grenzen gesundes Wachstum in solchen Lösungen möglich ist. Nach den vorliegenden Erfahrungen[4]) ist es am besten, nicht die Salze selbst rein und mit einem bestimmten Kristallwassergehalt darzustellen, sondern von einer Lösung auszugehen, die 1 g-Mol Phosphorsäure im Liter enthält. Eine solche nicht durch Titration eingestellte Phosphorsäurelösung von bestimmtem Gehalt ist von Kahlbaum zu beziehen. Die Phosphorsäure wird mit einer auf Normaloxalsäure eingestellten Kalilauge vermischt.

1 Teil n-H_3PO_4 + 1 Teil n-KOH = KH_2PO_4 + H_2O primäres Kaliumphosphat $^1/_2$ n.

1 Teil n-H_3PO_4 + 2 Teile n-KOH = K_2HPO_4 + 2 H_2O sekundäres Kaliumphosphat $^1/_3$ n.

1 Teil n-H_3PO_4 + 3 Teile n-KOH = K_3PO_4 + 3 H_2O tertiäres Kaliumphosphat $^1/_4$ n.

Diese Lösungen wurden auf gleiche Normalität gebracht und

---

[1]) A. Artari, Der Einfluß der Konzentrationen der Nährlösungen auf die Entwicklung einiger grüner Algen II. 1906. Pringsh. Jb. f. w. B. Bd. XL. H. 4.

[2]) O. Richter, Zur Physiologie der Diatomeen. (II. Mitteilung.) Die Biologie der Nitzschia putrida Benecke. Denkschrift d. kais. Akad. d. W. in Wien. Math.-naturw. Kl. 1909. LXXXIV. Bd. [657] 1.

[3]) E. G. Pringsheim, Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen. (III. Mitteilung.) Beiträge z. Biologie d. Pflanzen. Bd. XII. 1913. S. 77.

[4]) L. Michaelis, Methoden zur Herstellung bestimmter Wasserstoffjonenkonzentrationen, Abderhaldens Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden. Bd. III, 2. Berlin und Wien. 1910. S. 1343.

bildeten die Stammlösungen. Das primäre und das sekundäre Phosphat ist nach Michaelis fast vollkommen dissoziiert.

$$KH_2PO_4 = K^{\cdot} + H_2PO_4'$$

Das sekundäre Phosphat in folgender Weise:

$$K_2HPO_4 = 2K^{\cdot} + HPO_4''$$

In einem Gemisch von primärem und sekundärem Kaliumphosphat sind fast genau soviel einwertige Phosphorsäure-Jonen H_2PO_4' enthalten, als primäres Phosphat darin gelöst wurde, und soviel zweiwertige Phosphorsäure-Jonen HPO_4'', als sekundäres Phosphat gelöst wurde. Nun besteht aber eine Beziehung zwischen $H^{\cdot}$, H_2PO_4' und HPO_4'' nach dem Massenwirkungsgesetz:

$$[H^{\cdot}] \cdot [HPO_4''] = k\,[H_2PO_4'] \text{ oder}$$

$$[H^{\cdot}] = \frac{k\,[H_2PO_4']}{[HPO_4'']}$$

wo k die Dissoziationskonstante der Phosphorsäure ist.

k beträgt für 18° $2{,}0 \cdot 10^{-7}$.

In einem Phosphatgemisch ist

$$[H^{\cdot}] = 2{,}0 \cdot 10^{-7} \frac{[\text{prim. Phosphat}]}{[\text{sek. Phosphat}]} \text{ für } 18^0$$

Phosphatgemische enthalten folgende $H^{\cdot}$– Konzentrationen:

primäres Phosphat / sekundäres Phosphat	$[H^{\cdot}]$ bei 18°
$^8/_1$	$0{,}16 \cdot 10^{-5}$
$^4/_1$	$0{,}80 \cdot 10^{-6}$
$^2/_1$	$0{,}40 \cdot 10^{-6}$
$^1/_1$	$0{,}20 \cdot 10^{-6}$
$^1/_2$	$1{,}0 \cdot 10^{-7}$
$^1/_4$	$0{,}50 \cdot 10^{-7}$
$^1/_8$	$0{,}25 \cdot 10^{-7}$

Die von mir hergestellten $^1/_{12}$ normalen Phosphatlösungen, die solchen von primärem und sekundärem Phosphat entsprechen, wurden in verschiedenen Verhältnissen gemischt und den Nährlösungen hinzugefügt, sodaß die letzteren $^1/_{200}$ Mol an Phosphaten aufwiesen. Als Stickstoffquelle wurde KNO_3 in geringer Konzentration (0,01%) hinzugegeben. Magnesiumsulfat und Calciumsalze mußten wegen der Gefahr der Bildung von unlöslichen Phosphaten in den Nährlösungen möglichst in geringer Menge angewandt werden. Es kam daher 0,01% Magnesiumsulfat in Anwendung und von Calciumsulfat wurden nur einige Tropfen einer in doppelt destilliertem Wasser aufgeschlämmten Gipslösung von 0,01% hinzugefügt. Von Eisen, das als Sulfat vorlag, waren nur Spuren zugegen.

Am 31. Juli 1913 wurden Oscillaria brevis, O. tenuis, Nostoc spec. Cylindrospermum licheniforme und Calothrix stellaris, wie aus untenstehender Tabelle hervorgeht, einmal in primäres und sekundäres

Kaliumphosphat geimpft und dann in die diesen Phosphaten entsprechenden verschiedenen Gemische. Das Ergebnis war am 29. August folgendes:

Oscillaria brevis war in Lösung 1 bei Gegenwart von primärem Kaliumphosphat eingegangen. Nicht viel anders war es ihr in den Kulturen 2 bis 4 ergangen, wo das primäre Phosphat noch im Überschuß vorhanden war. Die Algenfäden hatten sich zwar in Kultur 3 und 4 ausgebreitet, aber zu einer guten Entwicklung war es nicht gekommen. Teilweise sahen die Fäden gelb aus und kränkelten. Gesundes Wachstum setzte erst in Lösung 5 ein, wo der Alge gleiche Mengen von primärem und sekundärem Phosphat zur Verfügung standen. Doch war dasselbe auch hier noch gering. Bei zunehmendem Übergewicht des sekundären Phosphats nahm dagegen das Wachstum, wie aus der Tabelle ersichtlich ist, stetig zu. Gutes Wachstum wurde in den Lösungen 6 und 7 erzielt, das beste in Lösung 8 und 9. In der letzteren war freilich alles primäre Phosphat durch das sekundäre ersetzt worden. Ein scharfer Unterschied war zwischen diesen beiden Kulturen [8 und 9] nicht zu bemerken.

Oscillaria tenuis war wieder empfindlicher gegen H-Jonen als O. brevis. Erst in Lösung 6 hatte O. tenuis sichtbare Vermehrung erfahren. Die Kulturen 1 bis 3 waren vollständig eingegangen, 4 und 5 waren noch am Leben geblieben, zeigten aber keine gesunde Entwicklung. Nur wenige Fäden waren um die teilweise zusammengeballten Impfklümpchen strahlig angelegt worden. Erst Kultur 7 wies gutes Wachstum auf. Am besten hatten sich die Kulturen 8 und 9 entwickelt. Nach den erhaltenen Algenmengen zu urteilen, waren dieselben in den Lösungen, wo überhaupt Wachstum stattgefunden hatte, nicht so reichlich gediehen wie bei O. brevis. Während diese Art sich den H-Jonenkonzentrationen besser anzupassen vermag, ist dies bei O. tenuis nicht in demselben Maße der Fall. Ihr ungefähr gleich zu stellen ist die Nostoc spec. Nostoc war ebenfalls in Lösung 6 erst gut gewachsen, während in den vorhergehenden Kulturen 4 und 5 nur eine sehr schwache Entwicklung festzustellen war. Bei weiterer Zunahme des sekundären Kaliumphosphates wuchs in den Lösungen 7 bis 9 die Algenmenge. Das beste Wachstum konstatierte ich dagegen wieder bei sehr geringer Gegenwart des primären Phosphates (Lösung 8) oder bei dessen völliger Abwesenheit. (Lösung 9.)

Noch empfindlicher waren Cylindrospermum licheniforme und Calothrix stellaris. In den Lösungen 5 und 6 war wohl ein äußerst schwaches Wachstum wahrzunehmen gewesen, doch war von einer regen Vermehrung der Algensubstanz auch späterhin nichts zu erkennen. Besseres Wachstum erzielte ich mit diesen Arten erst in Lösung 7. Eine günstige Steigerung hatte dasselbe besonders in Kultur 8 erfahren, während das Optimum bei 9 liegen dürfte.

Aus der Gegenüberstellung der Wachstumsergebnisse in primärem und sekundärem Phosphat an beiden Enden der Tabelle ist zu entnehmen, daß alle Arten sich nur in sekundärem Kaliumphosphat entwickelten, während das primäre Kaliumphosphat überhaupt kein Wachstum aufkommen ließ. Je nach der Empfindlichkeit der einzelnen Arten gegen die H-Jonenkonzentrationen konnte in den verschiedenen Phosphatgemischen bei bedeutendem Überschuß von Dikaliumphosphat

Angesetzt am 31. Juli 1913. **Versuch 12.** Ergebnis am 29. August 1913.

Verschiedene Gemische von primärem und sekundärem Kaliumphosphat.

Stammnährlösung: 0,01% KNO_3 + 0,01% $MgSO_4$ + $7H_2O$ + Spur $CaSO_4$ und $FeSO_4$.

Mischungsverhältnis von prim. u. sek. Phosphat.	Lösung 1. KH_2PO_4 ($^1/_{200}$ n.)	Lösung 2. prim. u. sek. Phosphat 8 : 1 ($^1/_{200}$)	Lösung 3. 4 : 1 ($^1/_{200}$)	Lösung 4. 2 : 1 ($^1/_{200}$)	Lösung 5. 1 : 1 ($^1/_{200}$)	Lösung 6. 1 : 2 ($^1/_{200}$)	Lösung 7. 1 : 4 ($^1/_{200}$)	Lösung 8. 1 : 8 ($^1/_{200}$)	Lösung 9. K_2HPO_4 ($^1/_{200}$)
Oscillaria brevis aus Petrischale mit Kieselg. vom 2. 7. 1913.	Fäden eingegangen, bleich.	Fäden eingegangen.	Fäden ausgebreitet, sehr wenig gewachsen, gelblich.	Zartes Häutchen, nicht viel Algenmasse.	1 Kultur wie in 4, die andere mehr Algenmasse.	Schöne Haut, gut gewachsen.	Gut gewachsen, der Unterschied zwischen 6 u. 7 ist nicht erheblich.	Sehr viel Algenmasse, noch stärkere Haut.	Sehr schöne, dicke Haut.
O. tenuis, Reinkultur aus Heydenagarröhrchen vom 25. 6. 1913.	Eingegangen.	Eingegangen.	Eingegangen.	Kaum gewachsen, nur wenige Fäden gebildet.	Fäden zusammengeballt, nicht viel vermehrt.	Zartes Netz.	Dichtes Netz, gutes Wachstum.	Sehr dichtes Netz.	Sehr dichtes Netz.
Nostoc spec., Reinkultur aus Heydenagarröhrchen vom 25. 6. 1913.	Impfklümpchen farblos.	Nicht gewachsen.	Nicht gewachsen.	Einzelne Fäden durchziehen die Flüssigkeit.	Bildung eines Häutchens, nicht viel gewachsen.	Zarte Haut, dieselbe ist stärker als bei 5.	Dichte Algenmenge, gute Kultur.	Sehr gutes Wachstum, Haut und Bodenbelag.	Wie in 8.
Cylindrospermum licheniforme aus Petrischale vom 9. 6. 1913.	Eingegangen.	Eingegangen.	Eingegangen.	Impfklümpchen sieht krank aus.	Wenig gewachsen.	Grüner Hof um das Impfklümpchen, geringes Wachstum.	Schon bedeutend vermehrt, gut gewachsen.	Schöne, grüne Haut.	Noch besser.
Calothrix stellaris aus Petrischale vom 9. 6. 1913.	Eingegangen.	Eingegangen.	Eingegangen.	Impfklümpchen gelblich.	Etwas vermehrt.	Zarte Haut auf der Oberfläche.	In 1 Kult. nicht viel stärker geworden, 2. Kultur viel besser.	Dichte Haut, sehr gutes Wachstum.	Dichte Haut, kein großer Unterschied zwischen 8 und 9.

Angesetzt am 29. Oktober 1913. **Versuch 13.** Ergebnis am 3. Dezember 1913.

Verschiedene Gemische von sekundärem und tertiärem Kaliumphosphat.

Stammnährlösung: 0,01% KNO_3 + 0,01% $MgSO_4 + 7H_2O$ + Spur $CaSO_4$ und $FeSO_4$ in dopp. dest. Wasser.

Mischungsverhältnis von sek. u. tert. Phosphat.	Lösung 1. K_2HPO_4 ($^1/_{200}$ n.)	Lösung 2. sek. u. tert. Phosphat. 4 : 1 ($^1/_{200}$)	Lösung 3. 2 : 1 ($^1/_{200}$)	Lösung 4. 1 : 1 ($^1/_{200}$)	Lösung 5. 1 : 2 ($^1/_{200}$)	Lösung 6. 1 : 4 ($^1/_{200}$)	Lösung 7. K_3PO_4 ($^1/_{200}$)
Oscillaria brevis aus Petrischale mit Kieselg. vom 14. 8. 1913.	Sehr dicke Haut, am besten gewachsen.	Wie in 1. Kein Unterschied zwischen 1 und 2.	1. Kultur: dicke Haut, 2. Kultur: dieselbe etwas dünner.	Dicke Haut, etwas dünner.	Haut merklich dünner, in einer Kultur recht dünn.	Haut sehr dünn.	Zartes Häutchen, nicht viel Algenmasse.
Oscillaria tenuis, Reinkultur aus Heydenagarröhrchen vom 15. 8. 1913.	Sehr schönes, grünes Netz, am besten gewachsen.	Sehr schönes Netz, kein Unterschied zwischen 1 und 2.	Das gleiche Verhalten.	Die Fäden haben sich zu einer Kugel vereinigt.	Dichte Kugel, nicht viel Algenmasse.	Wie in 5.	Dicke grüne Kugel, klein geblieben.
Nostoc spec., Reinkultur aus Heydenagarröhrchen vom 15. 8. 1913.	Sehr dicker Belag. Am besten gewachsen.	Sehr dicke Haut und Randbelag. Am besten gewachsen.	Ebenso wie in 2.	Haut etwas dünner.	Dichter Klumpen, Fäden nach dem Fenster zu strahlend.	Das gleiche Verhalten wie in 5.	Impfklümpchen zusammengeballt, klein geblieben.
Cylindrospermum licheniforme aus Petrischale vom 14. 8. 1913.	Schöne, grüne Haut.	Schöne Haut.	Schöne Haut.	Weniger Algenmasse, wie in 3.	In einer Kultur wie in 4, in der anderen Algenmenge noch geringer.	Nicht viel Algenmenge.	Impfklümpchen ist nicht gewachsen.
Calothrix stellaris aus Petrischale vom 14. 8. 1913.	Sehr schöne Haut.	Sehr schöne Haut.	Sehr schöne Haut.	Algenmenge geringer, auch gut gewachsen.	Wie in 4, kein erheblicher Unterschied.	Haut ist zart geblieben.	Sehr schwache Vermehrung.

noch gutes Wachstum erhalten werden. Die Grenze, wo überhaupt noch sichtbares Wachstum möglich ist, liegt für Oscillaria brevis in Kultur 5 bei gleichem Mengenverhältnis des primären und sekundären Phosphates. Für die übrigen Arten muß bereits ein Übergewicht von Dikaliumphosphat gegenwärtig sein. So zeigt Oscillaria tenuis und Nostoc spec. erst gutes Wachstum in Lösung 6, Cylindrospermum licheniforme und Calothrix stellaris in Lösung 7.

Verschiedene Gemische mit sekundärem und tertiärem Kaliumphosphat.

In folgendem Versuche soll gezeigt werden, in welchem Maße meine Blaualgen befähigt sind, sich wachsenden OH-Konzentrationen anzupassen, die in verschiedenen Mischungen von sekundärem und tertiärem Phosphat vorhanden sind. Die Nährlösung war dieselbe wie im vorhergehenden Versuch. Die Zugabe des Phosphatgemisches geschah wieder in der Weise, daß die komplette Nährlösung $^1/_{200}$ Mol an Phosphaten aufwies. Lösung 1 enthielt nur sekundäres Phosphat und Lösung 7 nur tertiäres, während die Lösungen in der Mitte verschiedene Gemische darstellten. Am 29. Oktober 1913 wurden alle Arten in die Lösungen, wie aus nebenstehender Tabelle hervorgeht, geimpft. Das Resultat war am 3. Dezember folgendes:

In Lösung 1, in der nur sekundäres Phosphat zugegen war, hatten sich alle Arten vorzüglich entwickelt, ebenso in den Kulturen 2 und 3 bei einem Überschuß von Dikaliumphosphat. Im Hinblick auf die erhaltenen Algenmengen mußten diese Kulturen als die besten angesehen werden. Gutes Wachstum wurde dann noch bei den meisten Arten in Lösung 4 erhalten. Die Algenmengen begannen in dieser Lösung meistens etwas abzunehmen, doch waren die Unterschiede nicht immer scharf. Deutliche Abnahme trat in den Kulturen 5 und 6 ein, während Lösung 7, die nur tertiäres Phosphat enthielt, sich für Cylindrospermum licheniforme und Calothrix stellaris ungünstig erwies. Die Oscillarien und Nostoc waren darin noch gewachsen, besonders Oscillaria brevis. Im großen und ganzen war das Wachstum aber nur mäßig.

Ich komme nun auf die Wachstumsergebnisse der einzelnen Arten näher zu sprechen. Oscillaria brevis hatte sich in den Kulturen 2 bis 4 am besten entwickelt, abgesehen von der ebenso gut gewachsenen Kultur 1, die nur Dikaliumphosphat enthielt und in der Versuchsreihe mehr als Kontrollkultur diente. Ein Unterschied im Wachstum zwischen dieser Kultur und den übrigen von 2 bis 4 war nicht zu bemerken. Die Kulturen waren gleich gut gewachsen und hatten annähernd gleich viel Algenmasse hervorgebracht. Erst in Lösung 5 war eine merkliche Abnahme der Algensubstanz zu erkennen, die in Lösung 6 und 7 deutlich zunahm. Trotzdem sahen aber die letzten Kulturen außer 7 noch gut aus, wenn das Algenmaterial

auch gering geblieben war. Oscillaria tenuis zeigte das beste Wachstum in den Lösungen 1 bis 3. Auf der Oberfläche der Kulturflüssigkeit schwamm ein schönes grünes Netz. In Lösung 4 begannen sich aber die Fäden zu einer dichten Kugel zu vereinigen, die am Boden des Gefäßes lag. In diesem Stadium beharrten auch die übrigen Kulturen 5 bis 7. Eine Abnahme der Algensubstanz hatte bereits in Lösung 5 stattgefunden. Kultur 7 war im Wachstum zurückgeblieben. — Nostoc spec. hatte die größten Algenmengen in den Kulturen 1 bis 3 gebildet. Gut war noch Kultur 4 gediehen. Hier war die Algenhaut bereits dünner geworden. In den Kulturen 5 bis 7 hatten sich die Fäden zu Klumpen vereinigt und zeigten somit ein ähnliches Verhalten wie Oscillaria tenuis.

Cylindrospermum licheniforme war ebenfalls am besten in den Lösungen 1 bis 3 gewachsen. Eine geringe Verminderung der Algensubstanz fand in Kultur 4 statt. In den Lösungen 5 und 6 war das Wachstum sehr gering, in Lösung 7 gleich Null.

Calothrix stellaris zeigte im wesentlichen denselben Entwicklungsgang wie die vorhergehende Art.

Demnach wird von den Blaualgen etwas mehr Basicität als Acidität vertragen, sie sind nach beiden Seiten ungleich empfindlich; denn KH_2PO_4 reagiert noch kaum sauer.

VI. Übersicht und ökologische Bedeutung der Ergebnisse.

Die verschiedenen Stickstoffsalze fördern das Wachstum der Blaualgen mehr oder minder gut. Daß dasselbe von der Art des Kations abhängig ist, habe ich wiederholt betont. So erweist sich von den Nitraten das Kaliumnitrat, da es nach Verbrauch des Anions mit der Kohlensäure der Luft zu dissoziiertem alkalischen Karbonat zusammentritt, schädlicher als das gut brauchbare, physiologisch neutrale Calciumnitrat. Auch das sekundäre Ammoniumphosphat ist, da die Phosphorsäure verhältnismäßig wenig dissoziiert, gut anwendbar. Anders verhält es sich aber mit den übrigen Ammoniumverbindungen. Ammoniumsulfat erwies sich ungünstig für Blaualgenkulturen, da nach Abbau des Kations sich in der Nährlösung die schädigenden Wirkungen der H-Jonen Anhäufung bemerkbar machen. Bei Ammoniumnitrat dagegen ist die Giftwirkung wohl eine solche des Kations; denn die Blaualgen ziehen offenbar das NO_3' vor, und freies Ammoniak ist schädlich.

Alle bei meinen Versuchen verwendeten Stickstoffsalze lassen ein Wachstumsoptimum erkennen. Daß dasselbe einer mehr oder minder hohen Konzentration entspricht, beruht einerseits auf der Giftigkeit der verwendeten Salze, andererseits auf der Empfindlichkeit der Arten. Calciumnitrat stellt neben dem auch noch gut verwendbaren sekundären Ammoniumphosphat die günstigste Stickstoffquelle für Blaualgen dar. Daher liegen die Wachstumsoptima fur diese Salze bei einer höheren

Konzentration als bei den anderen Stickstoffsalzen wegen der in den Nährlösungen der letzteren auftretenden Reaktionsänderungen. Wie ferner aus der Tabelle hervorgeht, liegt das Wachstumsoptimum auch für ein und dasselbe Salz, z. B. $Ca(NO_3)_2$, nicht für alle Arten bei demselben Konzentrationspunkt. Man muß daher ein verschiedenes Stickstoffbedürfnis der Cyanophyceen annehmen. Die größte Stickstoffmenge beanspruchen die Oscillarien und einige Cylindrospermum-Arten: Cyl. licheniforme f. typ. und Cyl.† [1]) minutissimum. Eine Mittelstellung nehmen Nostoc und Cyl.† licheniforme f. Lemm. ein, und am anspruchslosten erweisen sich Calothrix stellaris und die übrigen Cylindrospermum-Arten: Cyl.† muscicola, Cyl.† catenatum, Cyl.† majus.

Es fragt sich nun, wie sind die Lebensgewohnheiten und die Standortsverhältnisse der einzelnen Arten in der freien Natur mit den Erfahrungen, die wir aus den Ernährungsversuchen mit verschiedenen Stickstoffquellen gewonnen haben, in Einklang zu bringen. Das verschiedene Stickstoffbedürfnis der Cyanophyceen spricht dafür, daß die Arten bei der Besiedelung des Bodens von dem jeweiligen verfügbaren Stickstoffgehalt abhängig sind. Diejenigen Arten, die am wenigsten Stickstoff bedürfen, wie Calothrix und die Mehrzahl der Cylindrospermum-Arten, werden den Kampf ums Dasein auf stickstoffarmen Böden besser bestehen als die viel anspruchsvolleren Oscillarien, und daher in der Bodenflora vorherrschen. Bei der Wiederbesiedlung [2]) des im Jahre 1883 durch eine furchtbare Eruption aller Vegetation beraubten Teiles der Insel Krakatau traten Cyanophyceen als erste Organismen auf dem sterilen Aschen- und Steinboden auf, die später Farnsporen in ihren Gallertlagern durch Festhalten hinreichender Feuchtigkeit das Keimen ermöglichten. Unter den Cyanophyceen befand sich Anabaena, eine dem Nostoc nahe verwandte Art, die wahrscheinlich ebenfalls wie dieser ein nicht allzugroßes Stickstoffbedürfnis aufweist. Die an größere Stickstoffmengen gewöhnten Oscillarien fehlten noch.

Eine Stütze findet diese Beobachtung durch folgende Versuche. Bei den zahlreichen Anhäufungsversuchen meines Kollegen Glade war mir aufgefallen, daß neben Cylindrospermum- in der Hauptsache Anabaena- und Nostoc-Arten und nur in drei Fällen Oscillarien gewonnen wurden. Bei dem ungeheuren Artenreichtum der Oscillarien ist dies Ergebnis auffallend. Da die Oscillarien wie die meisten Cyanophyceenarten kosmopolitisch sind, so ist das Ausbleiben derselben

---

[1]) Die mit einem Kreuz versehenen Arten wurden von meinem Kollegen Glade untersucht.

[2]) M. Treub, Notice sur la nouvelle flore de Krakatau. Ann. de Buitenzorg. VII. 213. 1888.

Wachstumsoptima und Wachstumsgrenzen in verschiedenen N-Quellen.

	$Ca(NO_3)_2$	$(NH_4)_2 HPO_4$	KNO_3	KNO_2	$(NH_4)_2 SO_4$	$NH_4 NO_3$	
Oscillaria brevis.	0,1%	0,1%	0,025%	0,01%	0,01%	0,01%	Optimum.
	0,5%— 0,01%	0,5% — 0,01%	0,1% — 0,01%	0,1%— 0,01%	0,05%— 0,01%	0,05%— 0,01%	Wachst.-Grenzen.
Oscillaria tenuis.	0,1%	0,025%	0,01%	0,01%	0,01%	0,01%?	Optimum.
	0,5%— 0,01%	0,1% — 0,01%	0,1% — 0,01%	0,1% — 0,01%	0,05%— 0,01%	0,05%— 0,01%	Wachst.-Grenzen.
Nostoc spec.	0 05%	0,025%	0,01%	0,01%?	0,01%?	0,01%	Optimum.
	0,1%— 0,01%	0,1%— 0,01%	0,1%— 0,01%	0,05%— 0,01%	0,05%— 0,01%	0,05%— 0,01%	Wachst.-Grenzen.
Calothrix stellaris	0,025%	0,01%	0,01%	0,01%?	0,01%?	0,01%?	Optimum.
	0,1% — 0,01%	0,05%— 0,01%	0,05%— 0,01%	0,05% — 0,01%	0,05%— 0,01%	0,05%— 0,01%	Wachst.-Grenzen.
Cylindrospermum licheniforme f. typ.	0,1%	0,025%	0,01%	—	—	—	Optimum.
	0,25%— 0,01%	0,1%— 0 01%	0,05%— 0,01%	0,025%— 0,01%	0,05%— 0,01%	0,05%— 0,01%	Wachst.-Grenzen.
Cyl.†) muscicola.	0,01%	0,01%	0,01%	—	0,01%		Optimum.
	0,1%— 0,01%						Wachst.-Grenzen.
Cyl.†) minutissimum	0,1%	—	0,01%	—	—		Optimum.
	0,1%— 0,01%						Wachst.-Grenzen.
Cyl.†) catenatum.	0,01%	0,01%	—	—	0,01%?		Optimum.
	0,1% — 0,01%						Wachst.-Grenzen.
Cyl.†) majus.	0,01%	0,01%	0,01%?	0,01%?	0,01%		Optimum.
	0,1% — 0,01%						Wachst.-Grenzen.
Cyl.†) licheniforme f. Lemm.	0,05%	0,01%	0,01%	0,01%?	0,01%		Optimum.
	0,1%— 0,01%						Wachst.-Grenzen.

†) Die mit einem Kreuz versehenen Arten wurden von meinem Kollegen Glade untersucht. Zur Kenntnis der Gattung Cylindrospermum. S. 318—326.

der Stickstoffarmut in den Anhäufungsversuchen zuzuschreiben, sodaß nur die sich mit sehr geringen Stickstoffmengen begnügenden Arten wie Cylindrospermum und Nostoc sich entwickeln konnten. Trotzdem könnte aber folgender Einwand geltend gemacht werden. Warum gelang es nicht, bei den Anhäufungsversuchen irgend eine Calothrix spec. oder eine ihr verwandte Art, die ebenfalls nur an geringe N-Mengen gebunden ist, zu erhalten? Wenn man die Standortsverhältnisse dieser Gattung in Betracht zieht, so findet man, daß Calothrix-Arten zumeist Überzüge an Wasserpflanzen und untergetauchten Gegenständen bilden, während die Oscillarien, Nostocaceen

und Cylindrospermum-Arten mit Vorliebe feuchte Stellen des Erdbodens besiedeln. Da die Erdproben für die Anhäufungsversuche mit Absicht hauptsächlich nur diesen Stellen entnommen wurden, wo man Cylindrospermum vermutete, so dürfte es nicht ausgeschlossen sein, daß die Standorte, die für Calothrix günstig sind, beim Sammeln übergangen wurden, zumal der Artenreichtum nicht sehr groß ist. Aus dem Dargelegten darf man aber nicht schließen, daß Calothrix und Cylindrospermum nur an stickstoffarmen Orten wachsen. Ebenso gut kommt Cylindrospermum auch an Stellen mit höherem Stickstoffgehalt vor. In diesem Falle wird aber der Kampf ums Dasein, wie schon Glade betont, mit den Oscillarien, die sich bei reichlicher Stickstoffnahrung sehr stark vermehren, einsetzen.

Von den Elementen, die das Wachstum der Blaualgen beeinflussen, sind ferner Calcium und Kalium zu nennen. Diese für die Algenernährung notwendigen Elemente können nicht durch ihre nächsten Anverwandten ersetzt werden. So konnte das Kalium nicht durch Natrium vertreten werden, während das Calcium nur für eine gewisse Zeit durch Strontium ersetzt werden kann. Doch von einer völligen Vertretbarkeit kann nicht die Rede sein. Daß die Blaualgen Kalium zu ihrer Entwicklung bedürfen, zeigten auch die Versuche, in denen dieses unentbehrliche Element bis zum Minimum abgestuft wurde. Die Werte, wo optimales Wachstum stattfindet, und in welchen Grenzen sich das Wachstum im allgemeinen bei den einzelnen Arten bewegt, sind in untenstehender Tabelle sowohl für Kalium als auch Phosphor beigegeben.

Optimale Konzentration des Kaliums und des Phosphors.

	K.	P.	
Oscillaria brevis.	0,005%	0,01% u. 0,005%	Optimum.
	0.025%—0,0001%	0,01%—0,0001%	Wachstumsgrenzen.
Nostoc spec.	0,001%	0,001%	Optimum.
	0,01%—0,0001%	0,01%—0,0001%	Wachstumsgrenzen
Calothrix stellaris.	0,005%	0,001%	Optimum.
	0,01%—0,0001%	0,01%—0,0001%	Wachstumsgrenzen.
†) Cylindrospermum lich. f. typ.		0,01%	Optimum.
		0,02%—0,0001%	Wachstumsgrenzen.
†) Cylindrospermum lich. f. Lemm.		0,005%	Optimum.
		0,02%—0,0001%	Wachstumsgrenzen.

Die Blaualgen verhalten sich in ihrem Nährsalzbedürfnis genau wie höhere Pflanzen, doch ist bei der Wahl der Salze und der Bereitung der Nährlösungen auf die Reaktion der Flüssigkeit viel strenger zu achten als es bei den letzteren der Fall ist. Am besten gedeihen

Cyanophyceen in einer schwach alkalischen Lösung, wie sie durch das sekundäre Kaliumphosphat erreicht wird. Dagegen wirkt, wie aus den Versuchen mit Phosphatgemischen hervorgeht, schon die schwächste Acidität hemmend auf das Wachstum. Ein Steigen der Basicität dagegen wird besser vertragen.

VII. Zusammenfassung.

1. Jedes Stickstoffsalz läßt bei einer bestimmten Konzentration ein Optimum des Wachstums bei den kultivierten Blaualgen erkennen. Dasselbe ist von der in der Nährlösung auftretenden Reaktion mehr oder minder abhängig.

2. Calciumnitrat stellt die günstigste Stickstoffquelle dar, erst in weiterem Abstande folgen Ammoniumphosphat und Kaliumnitrat. Kaliumnitrit konnte von Oscillarien verwendet werden, erwies sich aber nicht günstig für die anderen Arten. Ammoniumsulfat und Ammoniumnitrat waren nicht gut brauchbar.

3. Das Stickstoffbedürfnis ist bei den einzelnen Arten verschieden. Die größte Stickstoffmenge beanspruchen die Oscillarien, Cylindrospermum licheniforme f. typ. und Cylindrospermum minutissimum, die geringste die übrigen Cylindrospermum-Arten und Calothrix stellaris. In der Mitte steht Nostoc. In stickstofffreien Nährlösungen war bei allen Arten keine Entwicklung möglich.

4. Calcium ist ein unentbehrliches Element für die untersuchten Blaualgen. Eine völlige Ersetzung derselben durch Strontium ist nicht möglich.

5. Kalium kann nicht durch Natrium ersetzt werden. Meine Cyanophyceen brauchen erhebliche Mengen dieses unentbehrlichen Elementes zu ihrer Ernährung.

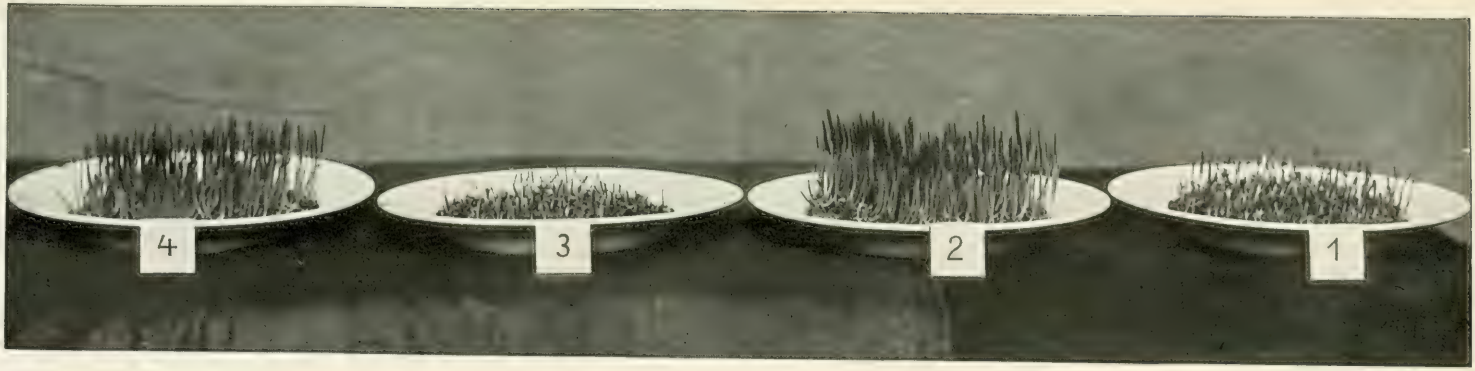
6. Nährlösungen, die schwache Alkalität aufweisen, wie sie durch das sekundäre Kaliumphosphat erhalten wird, sind am vorteilhaftesten für Blaualgenkulturen. Ein Anwachsen der Basicität wird besser vertragen als ein Steigen der Acidität.

Die vorliegenden Untersuchungen wurden von S.-S. 1912 bis W.-S. 1913/14 im Botanischen Institut der Universität Halle-Wittenberg ausgeführt.

Es sei mir auch an dieser Stelle gestattet, meinen hochverehrten Lehrern Herrn Professor Dr. G. Karsten und Herrn Professor Dr. Pringsheim meinen verbindlichsten Dank auszusprechen. Herrn Professor Pringsheim verdanke ich die Anregung zu dieser Arbeit und die liebenswürdige Förderung bei ihrer Ausführung, und Herrn Professor Dr. Karsten bin ich für das dauernde Interesse zu Dank verpflichtet.

Druck von R. Nischkowsky in Breslau.

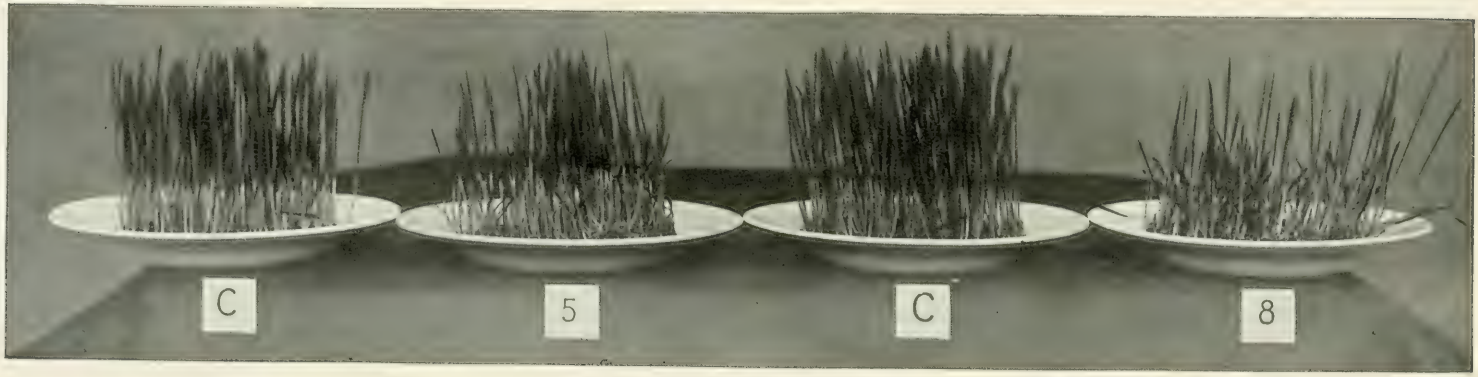
I



Weizen-Saat 14 Tage alt.

No. 2 u. 4 unbestrahlt, No. 1 u. 3 in Etappen 120 Minuten mit Höhensonne (Quecksilberdampflicht) bestrahlt.

II



Weizen-Saat 11 Tage alt.

C = unbestrahlt. No. 5 = 1 Stunde, No. 8 = 2 Stunden hintereinander nach 48 stündiger Auskeimung mit Quarzlampe bestrahlt.

W. Carl phot.

Louis Gerstner, Kunstanstalt, Leipzig.

New York Botanical Garden Library
3 5185 00259 1913